

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-344276

(43)Date of publication of application : 03.12.2003

(51)Int.Cl.

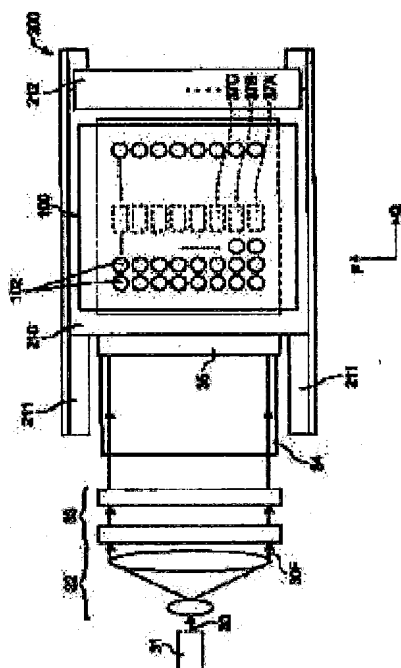
G01N 21/27

G01N 21/01

(21)Application number : 2002-157422 (71)Applicant : FUJI PHOTO FILM CO LTD

(22)Date of filing : 30.05.2002 (72)Inventor : OTSUKA TAKASHI  
KUBO TAKASHI

## (54) MEASURING APPARATUS



(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a measuring apparatus utilizing total reflected light that prevents a liquid sample from adhering to an inner surface of a sample holder when the liquid sample is poured into the sample holder.

SOLUTION: Dielectric and transparent polypyrrole is used as a material of a measuring unit (measuring plate 100) formed of the sample holder and a dielectric block that are integrated. By using the dielectric material, the inner surface 102a of the sample holder (well 102) with which the liquid sample 11 contacts is prevented from being

charged, thereby preventing defective dropping of the liquid sample 11 due to the charge.

---

## CLAIMS

---

[Claim(s)]

[Claim 1]A light source made to generate an optical beam.

A measuring unit provided with a sample attaching part holding a liquid sample to said optical beam on a transparent dielectric block, a thin film layer formed in the whole surface of this dielectric block, and the surface of this thin film layer.

An incident light study system in which said optical beam is entered to said dielectric block of said measuring unit by an incidence angle from which a total reflection condition is acquired by an interface of this dielectric block and said thin film layer.

A photodetection means which measures intensity of an optical beam which carried out total internal reflection by said interface of said measuring unit.

It is the measuring device provided with the above, and a flank which has a medial surface of said sample attaching part which contacts said liquid sample at least consists of conductive materials.

[Claim 2]A light source made to generate an optical beam.

A measuring unit provided with a sample attaching part holding a liquid sample to said optical beam on a transparent dielectric block, a thin film layer formed in the whole surface of this dielectric block, and the surface of this thin film layer.

An incident light study system in which said optical beam is entered to said dielectric block of said measuring unit by an incidence angle from which a total reflection condition is acquired by an interface of this dielectric block and said thin film layer.

A photodetection means which measures intensity of an optical beam which carried out total internal reflection by said interface of said measuring unit.

It had an antistatic means by which it was the measuring device provided with the above, and said sample attaching part prevented electrification to a medial surface in contact with said liquid sample of this sample attaching part.

[Claim 3]A light source made to generate an optical beam.

A measuring unit provided with a sample attaching part holding a liquid sample to said optical beam on a transparent dielectric block, a thin film layer formed in the whole surface of this dielectric block, and the surface of this thin film layer.

An incident light study system in which said optical beam is entered to said dielectric block of said measuring unit by an incidence angle from which a total reflection condition is acquired by an interface of this dielectric block and said thin

film layer.

A photodetection means which measures intensity of an optical beam which carried out total internal reflection by said interface of said measuring unit.

It had further an electrification elimination means which is the measuring device provided with the above and removes electrification in a medial surface in contact with said liquid sample of said sample attaching part.

[Claim 4]A light source made to generate an optical beam.

A measuring unit provided with a sample attaching part holding a liquid sample to said optical beam on a transparent dielectric block, a thin film layer formed in the whole surface of this dielectric block, and the surface of this thin film layer.

An incident light study system in which said optical beam is entered to said dielectric block of said measuring unit by an incidence angle from which a total reflection condition is acquired by an interface of this dielectric block and said thin film layer.

A photodetection means which measures intensity of an optical beam which carried out total internal reflection by said interface of said measuring unit.

It is the measuring device provided with the above, and a medial surface in contact with said liquid sample of said sample attaching part has hydrophilic nature.

[Claim 5]A light source made to generate an optical beam.

A measuring unit provided with a sample attaching part holding a liquid sample to said optical beam on a transparent dielectric block, a thin film layer formed in the whole surface of this dielectric block, and the surface of this thin film layer.

An incident light study system in which said optical beam is entered to said dielectric block of said measuring unit by an incidence angle from which a total reflection condition is acquired by an interface of this dielectric block and said thin film layer.

A photodetection means which measures intensity of an optical beam which carried out total internal reflection by said interface of said measuring unit.

It is the measuring device provided with the above, and has hydrophobicity for a medial surface in contact with said liquid sample of said sample attaching part.

---

[Translation done.]

---

## DETAILED DESCRIPTION

---

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention]This invention relates to the measuring device using generating of the evanescent wave by total-internal-reflection lights, such as a surface plasmon measuring device which analyzes the characteristic of a substance using generating of surface plasmon.

[0002]

[Description of the Prior Art]The compressional wave which a free electron vibrates collectively and is called a plasma wave into metal arises. And what quantized this compressional wave produced in a surface of metal is called surface plasmon.

[0003]Conventionally, the surface plasmon measuring device which analyzes the characteristic of a substance under test is variously proposed using the phenomenon in which this surface plasmon is excited by the light wave. And the thing using the system called Kretschmann arrangement as what is especially known well in them is mentioned (for example, refer to JP,H6-167443,A).

[0004]The dielectric block in which the surface plasmon measuring device using the above-mentioned system was fundamentally formed, for example in the shape of prism, The metal membrane which is formed in the whole surface of this dielectric block, and is contacted to substances under test, such as a liquid sample, A dielectric block is received in the light source made to generate an optical beam and the above-mentioned optical beam, It has an optical system entered at an angle of versatility so that a total reflection condition may be acquired by the interface of this dielectric block and a metal membrane, and a photodetection means which measures the intensity of the optical beam which carried out total internal reflection by the above-mentioned interface, and detects the state of surface plasmon resonance, i.e., the state of total reflection attenuation.

[0005]In order to acquire various incidence angles as mentioned above, as the ingredient which may change an incidence angle and may enter a comparatively thin optical beam in the above-mentioned interface and which carries out or enters into an optical beam at an angle of versatility is contained, it is in a convergence light state about a comparatively thick optical beam at the above-mentioned interface -- it is -- it may be made to enter in the state of sending light In the case of the former, according to change of the incidence angle of the optical beam which entered, the small photodetector which moves synchronizing with change of the above-mentioned angle of reflection can detect the optical beam from which an angle of reflection changes, or it can detect it by the area sensor prolonged along the

change direction of an angle of reflection. On the other hand, in the case of the latter, it is detectable by the area sensor prolonged in the direction which can receive the whole of each optical beam reflected by various angles of reflection.

[0006]In the surface plasmon measuring device of the above-mentioned composition, if an optical beam is entered by the specific incidence angle beyond a total reflection angle to a metal membrane, The evanescent wave which has electric field distribution in the substance under test which is in contact with this metal membrane arises, and surface plasmon is excited by the interface of a metal membrane and a substance under test by this evanescent wave. When the wave number vector of evanescent light is equal to the wave number of surface plasmon and wave number consistency is materialized, since both will be in a resonance state and luminous energy shifts to surface plasmon, the luminous intensity which carried out total internal reflection by the interface of a dielectric block and a metal membrane falls keenly. Generally the fall of this light intensity is detected as a dark line by the above-mentioned photodetection means. The above-mentioned resonance is produced only when an incident beam is p-polarized light. Therefore, it is necessary to set up beforehand so that an optical beam may enter by p-polarized light.

[0007]If the wave number of surface plasmon is known from the incidence angle which this total reflection attenuation (ATR) produces, i.e., total-reflection-attenuation angle  $\theta_{\text{sp}}$ , the dielectric constant of a substance under test will be called for. That is, about the wave number of surface plasmon, when angular frequency of  $K_{\text{sp}}$  and surface plasmon is set to  $\omega$  and the velocity of light in a vacuum,  $\epsilon_m$ , and  $\epsilon_s$  are made into the dielectric constant of metal and a substance under test for  $c$ , respectively, there are the following relations.

[0008]

[Equation 1]

$$K_{\text{SP}}(\omega) = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\epsilon_m(\omega)\epsilon_s}{\epsilon_m(\omega) + \epsilon_s}}$$

That is, dielectric constant  $\epsilon_s$  of a substance under test and the jam can ask for the characteristic relevant to a refractive index by getting to know total-reflection-attenuation angle  $\theta_{\text{sp}}$  to which the above-mentioned reflected light intensity falls and which is an incidence angle.

[0009]It is the 47th volume of "spectrum research" as a similar measuring device using total reflection attenuation (ATR), for example. The leaking mode measuring device which has a description in the 21-23rd page of No. 1 (1998) and the 26-27th

page is also known. The dielectric block in which this leaking mode measuring device was fundamentally formed, for example in the shape of prism, The cladding layer formed in the whole surface of this dielectric block, and the lightguide which is formed on this cladding layer and contacted to a liquid sample, The above-mentioned dielectric block is received in the light source made to generate an optical beam and the above-mentioned optical beam, It has an optical system entered at an angle of versatility so that a total reflection condition may be acquired by the interface of this dielectric block and a cladding layer, and a photodetection means which measures the intensity of the optical beam which carried out total internal reflection by the above-mentioned interface, and detects, the excitation state, i.e., the total-reflection-attenuation state, of guided mode.

[0010]In the leaking mode measuring device of the above-mentioned composition, if an optical beam is entered by the incidence angle beyond a total reflection angle to a cladding layer through a dielectric block, after penetrating this cladding layer, in a lightguide, only the light of a specific incidence angle which has a certain specific wave number will come to spread by guided mode. In this way, since most incident light will be incorporated into a lightguide if guided mode is excited, the total reflection attenuation to which the luminous intensity which carries out total internal reflection by the above-mentioned interface falls keenly arises. And since it depends for the wave number of waveguide light on the refractive index of the substance under test on a lightguide, the refractive index of a substance under test and the characteristic of the substance under test relevant to it can be analyzed by getting to know the above-mentioned specific incidence angle which total reflection attenuation produces.

[0011]As a measuring device using the total internal reflection of a surface plasmon resonance measuring device or a leaking mode measuring device, Enter light by the incidence angle from which a total reflection condition is acquired by the interface, and by generating of the evanescent wave by the light. It faces conducting characteristic analysis of a substance under test etc. by measuring change of the state of light which carried out total internal reflection by the interface, A device which enters in an interface the optical beam of two or more wavelength besides the device which measures the specific incidence angle which produces the above-mentioned total reflection attenuation, and detects the grade of the total reflection attenuation for every square-corrugated length, Or while entering an optical beam in an interface, divide a part of this optical beam before interface incidence, this divided optical beam is made to interfere with the optical beam reflected by the interface, and there are various types, such as a device which measures the state of this interference.

[0012]Measuring devices mentioned above, such as a surface plasmon resonance measuring device and a leaking mode sensor, may be used for the random screening

which finds out the special material combined with a predetermined sensing substance in an innovative drug development area of research etc. In this case, said thin film layer (in the case of a surface plasmon resonance measuring device, it is a metal membrane, and) In the case of a leaking mode measuring device, two or more measuring chips which fixed the sensing substance on the cladding layer and the lightguide are prepared, it trickles the liquid sample which contains analyte mutually on the sensing substance of each measuring chip, respectively, and measures the state of total-internal-reflection light. Thus, in performing measurement about two or more analytes, in order to require a long time, it becomes important how efficient measurement is performed.

[0013]

[Problem(s) to be Solved by the Invention]. In order to solve the above-mentioned problem, in the field of biochemistry, are used for enzyme immunoassay etc. It is possible to use the plate for measurement in which it comes to arrange a measuring chip for the matrix form of the same standard as the microtiter plate (it is also called a microwell plate / assay plate) which has wells (sample attaching part), such as 96 holes, 384 holes, and 1536 holes. If it has such a standard, existing apparatus, such as a distributive-pouring device for pouring distributively the liquid sample currently conventionally used for microtiter plates to each well, can be used effectively, handlability will improve, and more efficient measurement will be attained. As mentioned above, with the increase in the number of wells on 96 holes, 384 holes, 1536 holes, and a plate, each well is byway-ized and can also attain small-quantity-ization of a sample.

[0014]However, when pouring a liquid sample distributively to the well of a byway in this way, the drop adhered to the side of the well, and a sample did not contact on the thin film layer, but generating of the fault that a right measurement result is not obtained became clear. If such poor measurement arises, it will be necessary to perform internal observation for checking whether redo of measurement or the sample in a well has arrived on the thin film layer, etc., and shortening of measuring time will be checked. Poor dropping of a sample will become remarkable especially, if a small amount of liquid samples turn with the miniaturization of a well.

[0015]Poor dropping of this sample is mainly considered to be the influence of electrification (static electricity) of the side of a well. The influence of prudence of a drop becoming smaller than the surface tension of the side is also considered by small-quantity-ization of a sample.

[0016]An object of this invention is to provide the measuring device which prevented poor dropping by electrification (static electricity) in the medial surface in contact with the liquid sample of a sample attaching part, or small-quantity-izing of a liquid sample in light of the above-mentioned circumstances.

[0017]

[Means for Solving the Problem]The 1st measuring device of this invention to a light source made to generate an optical beam and said optical beam A transparent dielectric block, A thin film layer formed in the whole surface of this dielectric block, and a measuring unit provided with a sample attaching part holding a liquid sample on the surface of this thin film layer, In said optical beam, said dielectric block of said measuring unit is received, An incident light study system entered by an incidence angle from which a total reflection condition is acquired by an interface of this dielectric block and said thin film layer, A flank which has a medial surface of said sample attaching part which contacts said liquid sample at least in a measuring device which is provided with a photodetection means which measures intensity of an optical beam which carried out total internal reflection, and is characterized by things by said interface of said measuring unit consists of conductive materials.

[0018]As a conductive material, conductive resin, such as polypyrrole, can be used, for example.

[0019]The 2nd measuring device of this invention to a light source made to generate an optical beam and said optical beam A transparent dielectric block, A thin film layer formed in the whole surface of this dielectric block, and a measuring unit provided with a sample attaching part holding a liquid sample on the surface of this thin film layer, In said optical beam, said dielectric block of said measuring unit is received, An incident light study system entered by an incidence angle from which a total reflection condition is acquired by an interface of this dielectric block and said thin film layer, It had an antistatic means to prevent electrification to a medial surface where said sample attaching part contacts said liquid sample of this sample attaching part in a measuring device which is provided with a photodetection means which measures intensity of an optical beam which carried out total internal reflection, and is characterized by things by said interface of said measuring unit.

[0020]It is known that it is effective in decreasing electrification quantity in polymer materials, such as a synthetic resin, by attaching unevenness to the surface (carry out surface roughening of the surface). When a flank which has a medial surface of (for example, refer to "a surface macromolecule and static electricity:KYORITSU SHUPPAN") and said sample attaching part which contacts said liquid sample at least is formed with polymer materials, such as a synthetic resin, a medial surface by which surface roughening was carried out can constitute said antistatic means. A method of using a force piston, or mixing a little inorganic powder objects, or controlling a crystallized state and changing surface roughness as the method of concrete surface roughening, etc. are mentioned.

[0021]It may be made for a conductive film by which the tunic was continued and carried out to said whole medial surface to constitute said antistatic means.



[0022]The 3rd measuring device of this invention to a light source made to generate an optical beam and said optical beam A transparent dielectric block, A thin film layer formed in the whole surface of this dielectric block, and a measuring unit provided with a sample attaching part holding a liquid sample on the surface of this thin film layer, In said optical beam, said dielectric block of said measuring unit is received, An incident light study system entered by an incidence angle from which a total reflection condition is acquired by an interface of this dielectric block and said thin film layer, It had further an electrification elimination means which removes electrification in a medial surface which contacts said liquid sample of said sample attaching part in a measuring device which is provided with a photodetection means which measures intensity of an optical beam which carried out total internal reflection, and is characterized by things by said interface of said measuring unit.

[0023]As an electrification elimination means, an ion irradiation means, an electric conduction mat, etc. are mentioned, for example.

[0024]What is necessary is just to remove electrification to said medial surface of this sample attaching part by performing ion irradiation to this sample attaching part, or contacting this sample attaching part on an electric conduction mat, before liquid sample distributive pouring to said sample attaching part etc.

[0025]The 4th measuring device of this invention to a light source made to generate an optical beam and said optical beam A transparent dielectric block, A thin film layer formed in the whole surface of this dielectric block, and a measuring unit provided with a sample attaching part holding a liquid sample on the surface of this thin film layer, In said optical beam, said dielectric block of said measuring unit is received, An incident light study system entered by an incidence angle from which a total reflection condition is acquired by an interface of this dielectric block and said thin film layer, A medial surface which contacts said liquid sample of said sample attaching part in a measuring device which is provided with a photodetection means which measures intensity of an optical beam which carried out total internal reflection, and is characterized by things by said interface of said measuring unit has hydrophilic nature.

[0026]A medial surface which has hydrophilic nature can be acquired by carrying out the tunic of this medial surface with material of hydrophilic nature, such as titanium oxide, a surface-active agent, and  $\text{SiO}_2$ , for example.

[0027]The 5th measuring device of this invention to a light source made to generate an optical beam and said optical beam A transparent dielectric block, A thin film layer formed in the whole surface of this dielectric block, and a measuring unit provided with a sample attaching part holding a liquid sample on the surface of this thin film layer, In said optical beam, said dielectric block of said measuring unit is received, An incident light study system entered by an incidence angle from which a total reflection condition is acquired by an interface of this dielectric block and said

thin film layer, A medial surface which contacts said liquid sample of said sample attaching part in a measuring device which is provided with a photodetection means which measures intensity of an optical beam which carried out total internal reflection, and is characterized by things by said interface of said measuring unit has hydrophobicity.

[0028]A medial surface which has hydrophobicity can be acquired by carrying out the tunic of this medial surface with hydrophobic materials, such as Teflon (registered trademark) and silicone, for example.

[0029]Account each measuring device is good also as what was constituted so that it should consist of metal membranes and the above-mentioned thin film layer might be measured using an effect by the above-mentioned surface plasmon resonance.

[0030]Each above-mentioned measuring device is good also as what was constituted so that it should consist of a cladding layer formed in said upper surface of a dielectric block, and a lightguide formed on this cladding layer and the above-mentioned thin film layer might be measured using an effect by excitation of guided mode in this lightguide.

[0031]In a measuring device by this invention, Intensity of an optical beam which carried out total internal reflection by said interface by a photodetection means is measured, and there are various methods in analyzing a sample, For example, enter an optical beam by various incidence angles from which a total reflection condition is acquired by said interface, and intensity of an optical beam corresponding to each incidence angle which carried out total internal reflection by said interface for every position is measured, By detecting a position (angle) of a dark line generated by total reflection attenuation, may conduct sample analyzing and, D.V.Noort,K.johansen,C.-F.Mandenius, Porous Gold in Surface Plasmon Resonance Measurement, EUROSENSORS XIII, 1999, pp.585- 588 an optical beam of two or more wavelength may be entered by an incidence angle from which a total reflection condition is acquired by said interface, intensity of an optical beam which carried out total internal reflection by said interface for every wavelength may be measured, and sample analyzing may be conducted by detecting a grade of total reflection attenuation for every wavelength as it is alike and is indicated.

[0032].P.I.Nikitin,A.N.Grigorenko,A.A.Beloglazov,M.V.Valeiko,A.I.Savchuk,O.A.Savchuk, Surface Plasmon Resonance Interferometry for As indicated to Micro-ArrayBiosensing, EUROSENSORS XIII, 1999, and pp.235-238, While entering an optical beam by an incidence angle from which a total reflection condition is acquired by said interface, A part of this optical beam may be divided before this optical beam enters into said interface, and it may be made to interfere with an optical beam which carried out total internal reflection of this divided optical beam by said interface, and sample analyzing may be conducted by measuring intensity of an optical beam after that interference.

[0033]

[Effect of the Invention] Since the flank which has a medial surface of a sample attaching part which contacts a liquid sample at least consists of conductive materials, the 1st measuring device of this invention can prevent electrification, and can prevent the fault of a sample adhering to the side and not contacting a thin film layer, at the time of liquid sample distributive pouring to a sample attaching part.

[0034] Since the sample attaching part is provided with an antistatic means to prevent electrification to the medial surface in contact with the liquid sample of this sample attaching part, the 2nd measuring device of this invention can prevent the fault of a sample adhering to the side and not contacting a thin film layer, at the time of liquid sample distributive pouring to a sample attaching part.

[0035] Since the 3rd measuring device of this invention is provided with the electrification elimination means which removes electrification of the medial surface in contact with the liquid sample of a sample attaching part, Before liquid sample distributive pouring to a sample attaching part, electrification in the medial surface of this sample attaching part can be removed, and the fault of a sample adhering to the side and not contacting a thin film layer can be prevented at the time of liquid sample distributive pouring to a sample attaching part.

[0036] When the medial surface in contact with the liquid sample of a sample attaching part has hydrophilic nature, the 4th measuring device of this invention, The wettability of this medial surface can be raised, even if a liquid sample once adheres to a medial surface, this medial surface can be made dropped on a thin film layer as \*\*\*\* at the time of liquid sample distributive pouring to a sample attaching part, and the fault of a small amount of samples coming out, and this sample adhering to the side from a certain thing, and not contacting a thin film layer can be prevented.

[0037] When the medial surface in contact with the liquid sample of a sample attaching part has hydrophobicity, at the time of fluid distributive pouring to a sample attaching part, the 5th measuring device of this invention can prevent adhesion on the side of a sample solution drop, and can prevent the fault that a liquid sample does not contact a thin film layer.

[0038] Thus, since each measuring device of this invention can reduce the poor measurement by poor fall of the drop that a sample solution drop adheres to the medial surface of a sample attaching part, it can shorten the time which redo of the measurement for this measurement being poor, etc. take.

[0039]

[Embodiment of the Invention] Hereafter, with reference to Drawings, an embodiment of the invention is described in detail.

[0040] It is a perspective view of the plate for measurement in which the top view

and drawing 2 which drawing 1 shows the outline composition of the measuring device of a 1st embodiment of this invention are used for side shape, and drawing 3 is used for the measuring device of a 1st embodiment. As shown in drawing 3, the plate 100 for this measurement is arranged on the pitch, and eight-line the matrix form of 12 rows (8x12) to which the 96 wells 102 followed the predetermined standard on the surface of the plate base body 101 which has the same outside as the predetermined standard of a microtiter plate. The well 102 which constitutes a sample attaching part has the shape of the round cross section which becomes small [ a path ] caudad gradually from the base 101 upper surface, the metal membrane 12 is formed in the bottom inner face of this well 102, and the dielectric block 103 is formed in the external bottom.

[0041]As a graphic display, the dielectric block 103 is united with the plate base body 101, and is constituted by forming the bottom of the well 102 in convex thickly. One measuring unit is constituted by the dielectric block 103 corresponding to each well 102 and this well 102, namely, it comes to form the plate 100 for this measurement in [ two or more measuring units ] one.

[0042]The polypyrrole which has conductivity and transparency is used as a material of this plate 100. The dielectric block 103 has the emission face 103b to which the optical beam which carried out total internal reflection of the predetermined optical beam in the entrance plane 103a in which the interface 10b of the metal membrane 12 and the well bottom which were formed in the bottom inner face of the well 102 is entered, and this interface 10b is made to emit. The dielectric block 103 may be formed individually every well 102, covers the well [ two or more (here eight pieces) ] 102 located in a line in the direction of P in a figure, and may be formed continuously.

[0043]Since the plate 100 for this measurement is provided with the same outer size and the well 102 as a standard of a microtiter plate, the distributive-pouring machine 50 as shown in drawing 4 can be used for it as a means to supply the liquid sample 11 to the well 102. This distributive-pouring machine 50 is a distributive-pouring machine used in Ella Isa (elisa) etc. who the support member 52 comes to support the eight distributive-pouring nozzles 51 with a predetermined pitch, and carry out using the conventional microtiter plate. Thus, if the plate 100 for this measurement is used as a measuring unit, peripheral equipment, such as a distributive-pouring machine currently conventionally used for microtiter plates, can be used.

[0044]The plate 100 for this measurement is formed considering polypyrrole as a material, and since it has conductivity while it can raise the transmissivity of an optical beam, since polypyrrole is excellent in the transparency over an optical beam, it can prevent electrification. Since electrification of the plate 100 is prevented, namely, electrification in the medial surface 102a of the well 102 is prevented, At

the time of distributive pouring of the liquid sample 11 by the distributive-pouring machine 50, the problem that the liquid sample 11 adheres to the side 102a of the well 102 with static electricity can be reduced, and the poor measurement by a poor drop can be reduced.

[0045]The surface plasmon sensor shown in drawing 1 and drawing 2, In order to enter the laser light sources 31, such as the above-mentioned plate 100 for measurement, and a semiconductor laser made to generate the optical beam 30 for measurement (laser beam), and the optical beam 30 in the interface 10b of the eight wells 102 located in a line in the direction of P of the plate 100 for measurement, The incident light study system which consists of 2 sets of cylindrical beam expanders 32 and 33, the mirror 34, and the cylindrical lens 35 which constitute an incident light study system, Eight photodetection means 37 A-H which receives the optical beam reflected by the interface 10b of each well 102 and which was provided corresponding to each well 102, And it has the plate transportation device 200 for measurement to which the plate 100 for measurement is relatively moved to the system of measurement which consists of light source 31, incident light study system, and photodetection means 37 A-H.

[0046]The plate transportation device 200 for measurement is constituted by the rails 211 and 211 of 210 or 1 pair of plate feed bar for measurement, and the driving means 212, and the plate 100 for measurement is set to the prescribed position on the plate feed bar 210 for measurement. This plate feed bar 210 for measurement is laid on one pair of rails 211 and 211 allocated by the state of extending in the direction of arrow P, and is made movable by the driving means 212 along with these rails 211 and 211.

[0047]The one flattened optical beam 30F enters into the bottom of the well 102 of plurality (this example eight pieces) located in a line in the direction of arrow P in the plate 100 for measurement simultaneously. That is, a path is expanded only in the field shown in drawing 1 by the cylindrical beam expander 32, and the optical beam 30 emitted in the state of sending light from the one laser light source 20 is flattened by the bottom of the above-mentioned well 102 whose number is eight to the size which can be entered simultaneously.

[0048]And a path is expanded only in the field shown in drawing 2 by the cylindrical beam expander 33 below, and after it reflects by the big mirror 34 and this flattened optical beam 30F changes a direction of movement, it is condensed only in the field shown in drawing 2 with the cylindrical lens 35. Thereby, to the interface 10b of eight the metal membranes 12 of the well 102 and the dielectric blocks 103, the optical beam 30F enters, where it has various incidence angle ingredients. The laser light source 31 is allocated in the direction by which the optical beam 30 which is linear polarization comes to enter into the above-mentioned interface in the state of p-polarized light.

[0049]Many photo detectors comprise a line sensor which it comes to allot to one row, respectively, and photodetection means 37 A-H is allotted so that the line direction of a photo detector may turn into an arrow X direction in drawing 2. The optical beam 30 which carried out total internal reflection by the interface of each of said well is detected by photodetection means 37 A-H corresponding to each. The output of photodetection means 37 A-H of \*\* and others is processed in the signal processing part 61, respectively, and results, such as existence of the special material in a sample, are displayed on the displaying means 62.

[0050]Although only the one laser light source 31 is used as a light source in this embodiment, For example, two light sources are provided, the optical beam from one light source is flattened to the width which may enter into the bottom of the four wells 102, and you may make it flatten the optical beam from another light source to the width which may enter into the bottom of four another wells 102.

[0051]Eight is branched and it may be made for \*\*\*\*\* to enter the optical beam from one light source in the bottom of each well in parallel. Only the number of each wells provides a light source, and it may be made to enter the optical beam from each light source in each well.

[0052]Hereafter, the sample analyzing by the surface plasmon sensor of the above-mentioned composition is explained. The sample used as a measuring object is supplied to the well 102 by the distributive-pouring machine 50 shown in drawing 2.

[0053]The optical beam 30 which the laser light source 31 drove and was emitted from there where the well 102 holding the sample 11 is installed in the measuring point by which the optical beam 30 enters into the dielectric block 103 by a transportation device is flattened as mentioned above, and enters into the interface 10b by a convergence state. The optical beam 30 which carried out total internal reflection by this interface 10b is detected by photodetection means 37 A-H, respectively.

[0054]Since the optical beam 30 enters into the dielectric block 103 in the state of convergence light as above-mentioned, it contains the ingredient which enters by the various incidence angles  $\theta$  to the above-mentioned interface 10b. Let this incidence angle  $\theta$  be an angle beyond a total reflection angle. Then, total internal reflection of the optical beam 30 will be carried out by the interface 10b, and the ingredient reflected by various angles of reflection will be contained in this reflected optical beam 30.

[0055]Thus, when the optical beam 30 carries out total internal reflection, an evanescent wave oozes out from the interface 10b to the metal membrane 12 side. And since this evanescent wave resonates with the surface plasmon excited on the surface of the metal membrane 12 when the optical beam 30 enters by a certain specific incidence angle  $\theta_{sp}$  to the interface 10b, about this light, the reflected

light intensity  $I$  falls keenly. The incidence angle  $\theta$  at the time of this total-reflection-attenuation phenomenon arising and the relation with the reflected light intensity  $I$  are roughly shown in drawing 5.

[0056] Then, the amount of detection light for every photo detector is investigated from the light volume detecting signal  $S$  which photodetection means 37 A-H outputs. If based on the related curve of the reflected light intensity  $I$  and the incidence angle  $\theta$  which calculated the above-mentioned incidence angle (total-reflection-attenuation angle)  $\theta_{sp}$  based on the position of the photo detector which detected the dark line, and were searched for beforehand, the quantitative analysis of the special material in a sample can be carried out. In this embodiment, the sensing substance 14 combined with special material is beforehand fixed on the metal membrane 12. By dropping the liquid sample 11 containing analyte on this sensing substance 14, and measuring the amount of angle variations of total-reflection-attenuation angle  $\theta_{sp}$  by surface plasmon resonance, it is constituted so that it may judge whether the existence of combination of the sensing substance 14 and analyte, i.e., analyte, is special material. An antigen-antibody reaction etc. are mentioned to combination of a sensing substance and special material, for example.

[0057] That is, since the refractive index of the sensing substance 14 changes according to the integrated state of the above-mentioned special material and the sensing substance 14 and it changes to the form which the characteristic curve of drawing 5 moves to a longitudinal direction in this case, according to total-reflection-attenuation angle  $\theta_{sp}$ , an antigen-antibody reaction is detectable. The both sides of the sample 11 and the sensing substance 14 become a sample of an analysis object in this case.

[0058] Based on the above principle, the existence of combination with the sensing substance 14 and the special material in the sample 11 is analyzed in the signal processing part 61 in the measuring device of this embodiment, and the analysis result is outputted to the indicator 62.

[0059] In this embodiment, it can carry out [ phase ] and measurement about the sample currently stored in the eight wells 102 as mentioned above can be performed. And if these measurement is completed, the drive of the laser light source 31 will once be suspended, then the driving means 212 will operate, and the plate feed bar 210 (that is, the plate 100 for measurement.) for measurement will be sent in the direction of arrow  $Q$  in drawing 1 and drawing 2 by the disposing pitch of the well 102. If it will be in the state, the laser light source 31 will drive again, and thereby, the measurement about eight new samples is made. Thus, also in this embodiment, it is possible for it to be very efficient and to perform measurement about many samples in a short time.

[0060] In this surface plasmon sensor, without charging it on the side 102a of the

well 102, since the plate 100 for measurement is formed from polypyrrole, poor fall of the drop by electrification cannot be caused, but poor measurement can be reduced, and the reliability of measurement can be raised.

[0061]Drawing 6 is a schematic diagram of the leaking mode sensor which are other gestalten of the measuring device using the total reflection attenuation which used plate 100' for measurement of this invention. In the figure, a same sign is attached about an element equivalent to what is shown in drawing 2, and detailed explanation is omitted.

[0062]Plate 100' for measurement is made from the same polypyrrole as the plate 100 for measurement shown by a 1st embodiment, has the shape same in abbreviation, and differs in that the thin film layer provided in the bottom inner face of the well 102 consists of the cladding layer 41 and the lightguide 42 provided on it. This cladding layer 41 is formed filmy using the dielectric of a low refractive index, and metal, such as gold, rather than the dielectric block 103. The lightguide 42 is formed filmy using the dielectric of a high refractive index, for example, PMMA, rather than the cladding layer 41. It may be about 700 nm by the case where the thickness of 36.5 nm and the lightguide 42 is formed, for example from PMMA by the case where the thickness of the cladding layer 41 is formed, for example from a gold thin film.

[0063]In the leaking mode sensor shown in drawing 6, where the well 102 holding the sample 11 is installed in a prescribed position, measurement is performed. If the optical beam 30 emitted from the laser light source 20 is entered by the incidence angle beyond a total reflection angle to the cladding layer 41 through the dielectric block 103, this optical beam 30 will carry out total internal reflection by the interface 10b of the dielectric block 103 and the cladding layer 41, but. The light of the specific wave number which penetrated the cladding layer 41 and entered into the lightguide 42 by the specific incidence angle comes to spread this lightguide 42 by guided mode. In this way, since most incident light will be incorporated into the lightguide 42 if guided mode is excited, the total reflection attenuation to which the luminous intensity which carries out total internal reflection by the above-mentioned interface 10b falls keenly arises.

[0064]Since it is dependent on the refractive index of the sample (here sensing substance 14) on this lightguide 42, the wave number of the waveguide light in the lightguide 42 can analyze the refractive index of a sample, and the characteristic of the sample relevant to it by getting to know the above-mentioned specific incidence angle which total reflection attenuation produces.

[0065]In this embodiment, the sensing substance 14 combined with special material on the lightguide 42 like a 1st embodiment of the above is fixed beforehand, By dropping the liquid sample 11 containing analyte on this sensing substance 14, and measuring the amount of angle variations of total-reflection-attenuation angle



thetasp by excitation of guided mode, it is constituted so that it may judge whether the existence of combination of the sensing substance 14 and analyte, i.e., analyte, is special material.

[0066]Based on the above principle, the existence of combination with the sensing substance 14 and the special material in the sample 11 is analyzed in the signal processing part 61 in the measuring device of this embodiment, and the analysis result is outputted to the indicator 62.

[0067]By using plate 100' for measurement formed using polypyrrole also in this leaking mode sensor, Electrification in the well 102, i.e., electrification in the medial surface 102a of the well 102, is prevented, poor fall of a drop can be reduced, poor measurement can be reduced, and the reliability of measurement can be raised.

[0068]In the above-mentioned embodiment, although two or more measuring units mentioned as the example the plate for measurement formed in one and explained it, a measuring unit may consist of one sample attaching part (well) and dielectric block. The sample attaching part and the dielectric block may be constituted by the different body.

[0069]Hereafter, since only the antistatic means or discharge means of the measuring unit is a different thing from the measuring device of a 1st above-mentioned embodiment, only a point of difference with a 1st embodiment explains the measuring device of the 3-7th embodiments.

[0070]The measuring unit 110 of the measuring device of a 3rd embodiment, The flank 113 which constitutes the medial surface 112a of the sample attaching part (well) 112 as a sectional view is shown in drawing 7, It comprises parts with the prism 115 of the shape of a semicircular pillar which is the dielectric block with which the lower part of the glass substrate 114 which has a field in which the metal membrane 12 is formed, and this glass substrate 114 was equipped which are each different bodies, Where the flank 113 is forced on the glass substrate 114 provided with the metal membrane 12, the sample attaching part 112 is constituted, and this flank 113 is formed with conductive materials, such as polypyrrole. Thus, if the flank 113 of the sample attaching part 112 is conductivity, electrification of the medial surface of a sample attaching part is prevented like the above-mentioned plate 100 for measurement, and poor fall of the drop of a sample can be reduced. If the flank 113, the glass substrate 114, and the prism 115 which constitute the medial surface 112a of the sample attaching part 112 are a different body as shown in drawing 7, Since the flank 113 which constitutes the medial surface 112a of the sample attaching part 112 does not need to use a light transmission raw material if it has conductivity, it can enlarge flexibility of material selection.

[0071]The measuring unit 120 of the measuring device of a 4th embodiment, As a sectional view is shown in drawing 8, handstand truncation square weight shape formed with the synthetic resin etc. is carried out, the hole 121 which constitutes

the sample attaching part (well) 122 is formed in the upper part, and the lower part of the sample attaching part 122 constitutes the dielectric block 125. This measuring unit 120 covers the medial surface 122a of this sample attaching part 122, and the upper surface 123a of the flank 123, and the tunic of the conductive film 124 is carried out. That is, the antistatic means is constituted by this conductive film 124 in this embodiment. Poor fall of the sample solution drop by static electricity can be more effectively reduced by preventing electrification as the conductive film 124 by which the tunic was carried out to a medial surface and the upper surface, and making the metal member for discharge, etc. contact before sample distributive pouring further. As a member for discharge, the metal electrode holders for holding the measuring unit 120 at the time of sample distributive pouring, etc. may be used.

[0072]This conductive film 124 can be realized without being accompanied by the man day and increase in cost of a creation process, if it is made to vapor-deposit simultaneously at the time of vacuum evaporation of the metal membrane 12 at the bottom of a well.

[0073]Measuring unit 120' of the measuring device of a 5th embodiment is carrying out shape same in the measuring unit 120 and abbreviation shown in drawing 8, as a sectional view is shown in drawing 9. However, the medial surface 122a of the sample attaching part 122 is not equipped with a conductive film, but this medial surface 122a is made into the split face. In polymer materials, such as a synthetic resin, it is effective in what fine unevenness is attached to the surface for (surface roughening is carried out) decreasing electrification quantity, and the medial surface 122a by which surface roughening was carried out in this embodiment constitutes an antistatic means. By having made the medial surface 122a of the sample attaching part 122 into the split face, electrification of this medial surface 122a can be prevented (reduction), and poor fall of the sample solution drop by static electricity can be reduced.

[0074]The measuring device of a 6th embodiment is provided with the ion irradiation means 135 as a discharge means for discharging the electric charge charged in the sample attaching part of a measuring unit, as a perspective view is shown in drawing 10. The plate 130 for measurement shown here is the thing of the plate for measurement, and the shape of approximately isomorphism shown by drawing 3, and is formed with resin etc. The well 132 is irradiated with the ion which has an electric charge which neutralizes electrification charge electrified in the well 132 by the ion irradiation means 135 before sample distributive pouring to the well 132 of the plate 130 for measurement. Thus, poor fall of the drop of the sample at the time of sample distributive pouring can be reduced by discharging the electrification charge in the well 132 before sample distributive pouring.

[0075]The measuring unit 140 of the measuring device of a 7th embodiment is

carrying out shape same in the measuring unit 120 and abbreviation shown in drawing 8, as a sectional view is shown in drawing 11. However, the medial surface 122a of the sample attaching part 122 is not equipped with a conductive film, but this medial surface 122a covers the whole surface, it is coated by the hydrophilic membrane 142, such as  $\text{SiO}_2$ , and processing of hydrophilic nature is performed. In addition to this as a material of the hydrophilic nature to coat, titanium oxide, a surface-active agent, etc. may be used. If the amount of distributive pouring of a liquid sample turns into a minute amount (for example, 10microl) with byway-izing of the part 122 at the time of a sample cheek, once a drop adheres to the side, in self-weight, it may not fall to the bottom. Therefore, by coating with the material of hydrophilic nature, also when wettability of the side 122a is made high and a drop once adheres to the side 122a, the effect of dropping a drop to the well bottom can be acquired.

[0076]A  $\text{SiO}_2$  film takes effect also as an antireflection film by providing covering the entire surface of not only the sample attaching part side but the measuring unit 140. The sample attaching part 122 and the dielectric block part 125 as shown by drawing 11 the measuring unit 140 which comprised an integral-type synthetic resin material, Since the refractive index is small compared with the conventional glass member of the prism 115 grade of the measuring unit 110 of the separated type shown by drawing 7, there is a possibility that the reflectance to light may become and sensitometry may become low highly (namely, low [transmissivity]). The catoptric light reflected in the entrance plane of the optical beam 30, the emission face, etc. like a graphic display interferes with the optical beam for measurement, There is a problem that a noise occurs, and in the case of invisible lights, such as infrared light, an experimenter does not notice catoptric light etc., but an optical beam brings the eye 145 close, and there is also a possibility that catoptric light may go into an experimenter's eyes. However, the light volume of an optical signal is made to increase by having provided antireflection films, such as a  $\text{SiO}_2$  film, and interference with the optical beam for measurement and catoptric light can be controlled, and a signal noise can be reduced, and the safety to catoptric light can be raised. As an antireflection film, as long as it is a common low reflective film for plastic lenses, not only  $\text{SiO}_2$  but what kind of film may be used.

[0077]Although the measuring device using the total-internal-reflection light of each above-mentioned embodiment measures the state of total reflection attenuation from the degree of incidence angle which enters the optical beam from a light source at an angle of versatility to an interface, measures the catoptric light from this interface, and serves as a dark line and acquires the integrated state of analyte and a sensing substance, . Make the degree of incidence angle of an optical beam into the predetermined angle which fulfills a total reflection condition by an interface, and enter the optical beam which has various wavelength. Or the

wavelength of the optical beam to enter is changed, the catoptric light from an interface is measured, and it may be made to acquire the integrated state of analyte and a sensing substance according to the state of the total reflection attenuation for every wavelength.

[0078]The surface plasmon sensor provided with another system of measurement is explained as an 8th embodiment of this invention.

[0079]The surface plasmon sensor by this embodiment is provided with the plate for measurement of a surface plasmon sensor and the plate 150 for measurement of identical shape which were shown by a 1st embodiment shown in drawing 1, and it is constituted so that measurement to eight wells may be performed simultaneously.

[0080]The plate 150 for measurement of the measuring device of this embodiment is constituted by the synthetic resin etc., for example, and hydrophobic treatment is performed to the medial surface 152a of the well 152. The medial surface 152a of 152 of a well covers the whole surface, and is coated with hydrophobic materials, such as Teflon (registered trademark) and silicone. By coating the medial surface 152a of the well 152 with a hydrophobic material, the drop of a sample can be prevented from adhering to the side, a drop can be effectively dropped to the well bottom, poor fall of a drop can be reduced, and the poor measurement accompanied by poor fall of this drop can be reduced.

[0081]As side shape is shown in drawing 12, to the measuring point of the surface plasmon sensor of this embodiment. In the form which sandwiches the dielectric block 153 from right and left, respectively, two or more light source 334 a-h and CCD360 a-h are allocated, Between these light source 334 a-h and CCD360 a-h, collimating lens 350 a-h, interference optical system, and condenser 355 a-h and aperture 356 a-h are allocated. Although not illustrated, it has the same plate transportation device for measurement as the surface plasmon sensor shown in drawing 1 and drawing 2 for moving the plate 150 for measurement also in this surface plasmon sensor.

[0082]The above-mentioned interference optical system is constituted by polarizing filter 351 a-h, half mirror 352 a-h, half mirror 353 a-h, and mirror 354 a-h.

[0083]CCD360 a-h is connected to the signal processing part 361, and the signal processing part 361 is connected to the indicator 362.

[0084]Hereafter, measurement of the sample in the surface plasmon sensor of this embodiment is explained. Here, although explained taking the case of the one well 152 which it changed into the state of consistenting with the light source 334a and CCD360a among the wells of the plate for measurement, in the other wells 152, measurement is made similarly.

[0085]The light source 334a drives and the optical beam 330 is emitted in the state of sending light. Parallel Guanghua of this optical beam 330 is carried out with the collimating lens 350a, and it enters into the polarizing filter 351a. As for the optical

beam 330 penetrates the polarizing filter 351a and it was made to enter by p-polarized light to the interface 10b, a part is divided by the half mirror 352a as the reference optical beam 330R, and the remaining optical beams 330S that penetrated the half mirror 352a enter into the interface 10b. By the interface 10b, the reference optical beam 330R reflected by the optical beam 330S and the mirror 354a which carried out total internal reflection enters into the half mirror 353a, and is compounded. It is condensed by the condenser 355a, and compounded optical beam 330' passes the aperture 356a, and is detected by CCD360a. At this time, optical beam 330' detected by CCD360a generates an interference fringe according to the state of interference with the optical beam 330S and the reference optical beam 330R.

[0086]Here the sensing substance 14 currently fixed to the surface of the metal membrane 12, The existence of combination of a sensing substance and special material is detectable by combining with the special material in a sample, measuring continuously after liquid sample distributive pouring, and detecting change of the interference fringe detected by CCD360a. That is, in this case, if the refractive index of the sensing substance 14 changes according to the integrated state of the above-mentioned special material and the sensing substance 14, Since the state of interference changes when the optical beam 330S which carried out total internal reflection by the interface 10b, and the reference optical beam 330R are compounded with the half mirror 353a, according to change of the above-mentioned interference fringe, an integrated state is detectable.

[0087]The signal processing part 361 detects the existence of the above-mentioned reaction based on the above principle, and the result is displayed on the indicator 362.

[0088]The above measurement operation is similarly made in parallel to other seven wells 152, and the measurement to the sample currently stored in the eight wells 152 is made simultaneously. Exposure of the optical beam 330 to the eight wells 152 and detection of the existence of a reaction did not need to be performed simultaneously mutually strictly, and the time of the start or the end may be shifted somewhat mutually.

[0089]The signal processing part 361 may provide a thing for exclusive use to eight CCD360 a-h, respectively, or provides only one common thing to eight CCD360 a-h, and even if it processes sequentially the light volume detecting signal S which those CCD360 a-h outputted, it does not matter.

[0090]Then, the plate 150 for measurement is moved to a system of measurement by the transportation device which is not illustrated, and it is made for the well 152 with which measurement is presented next to serve as a prescribed position to a system of measurement. Thus, with two or more wells 152, movement of the plate 150 for measurement is presented one after another at measurement.

---

[Translation done.]

---

## DESCRIPTION OF DRAWINGS

---

### [Brief Description of the Drawings]

[Drawing 1]The top view of the surface plasmon sensor which is a measuring device of a 1st embodiment

[Drawing 2]The side view showing the outline of the surface plasmon sensor of drawing 1

[Drawing 3]The perspective view of the plate for measurement

[Drawing 4]The side view of the plate for measurement, and a distributive-pouring machine

[Drawing 5]The related figure of the degree of incidence angle of an optical beam, and reflected light intensity

[Drawing 6]The side view of the leaking mode sensor which is a measuring device of a 2nd embodiment

[Drawing 7]The sectional view of the measuring unit of the measuring device of a 3rd embodiment

[Drawing 8]The sectional view of the measuring unit of the measuring device of a 4th embodiment

[Drawing 9]The sectional view of the measuring unit of the measuring device of a 5th embodiment

[Drawing 10]The sectional view of the measuring unit of the measuring device of a 6th embodiment

[Drawing 11]The sectional view of the measuring unit of the measuring device of a 7th embodiment

[Drawing 12]The side view of the surface plasmon sensor which is a measuring device of an 8th embodiment

### [Description of Notations]

11 Liquid sample

12 Metal membrane

14 Sensing substance

30 Optical beam

31 Laser light source

32 and 33 Cylindrical beam expander

34 Mirror

35 Cylindrical lens

37 A-H Photodetection means

41 Cladding layer

42 Lightguide

50 Distributive-pouring machine  
61 Signal processing part  
62 Displaying means  
100 The plate for measurement  
101 Plate  
102 Well (sample attaching part)  
The medial surface of a 102a well  
103 Dielectric block

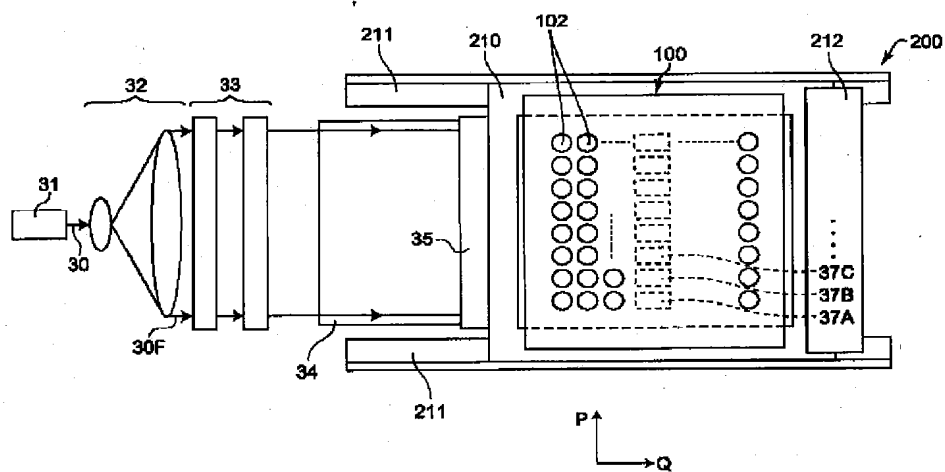
---

[Translation done.]

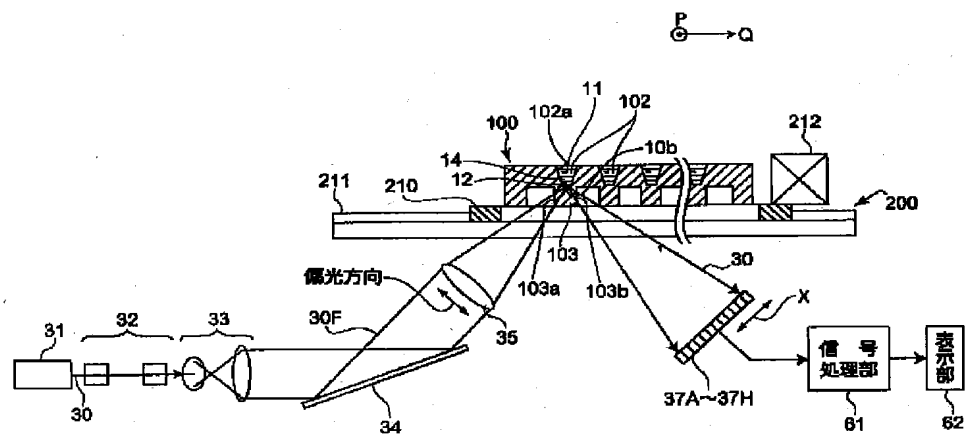


# DRAWINGS

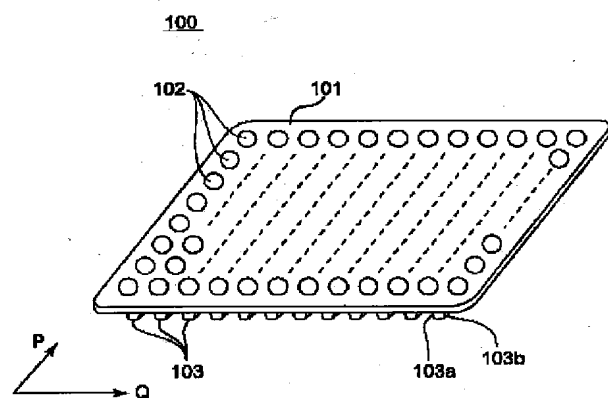
[Drawing 1]



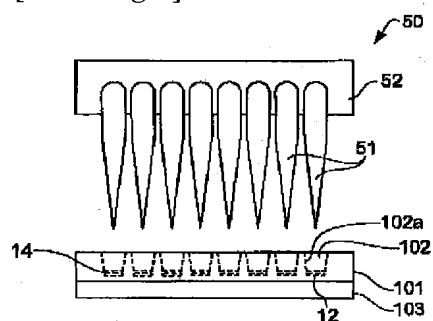
[Drawing 2]



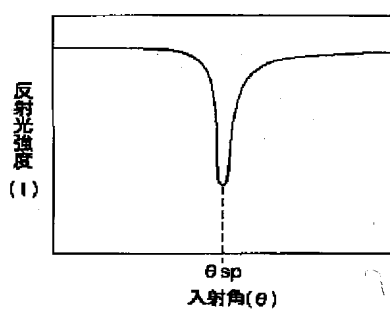
[Drawing 3]



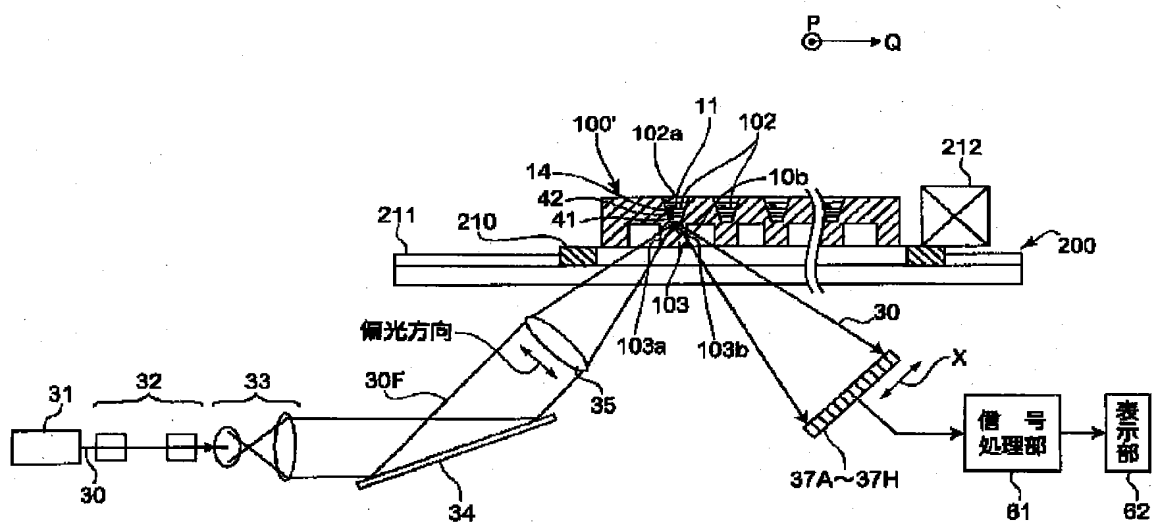
[Drawing 4]



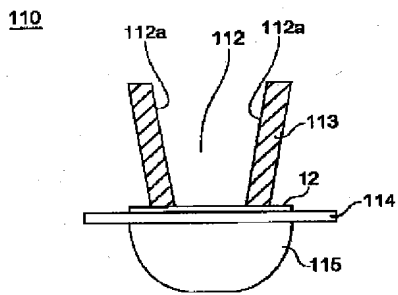
[Drawing 5]



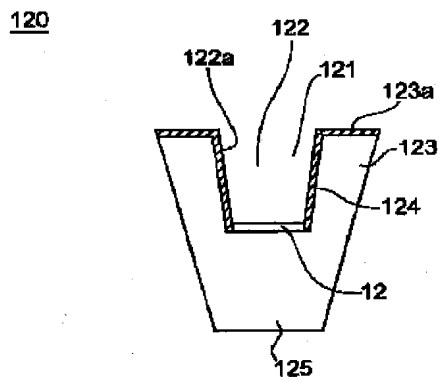
[Drawing 6]



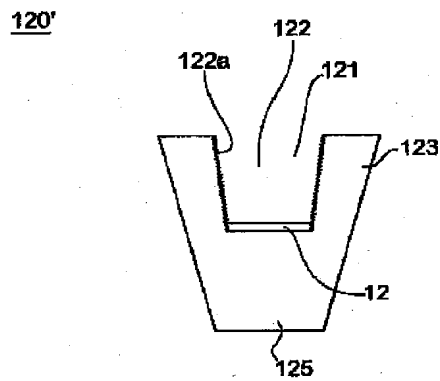
[Drawing 7]



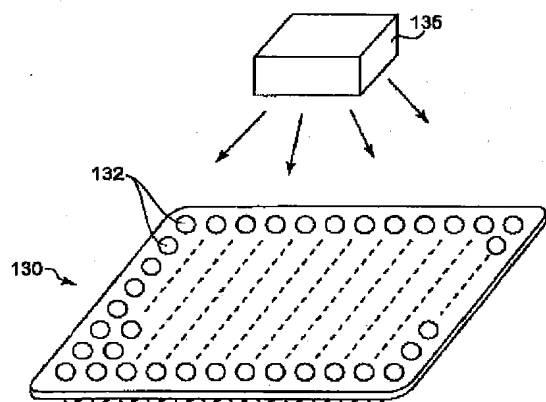
[Drawing 8]



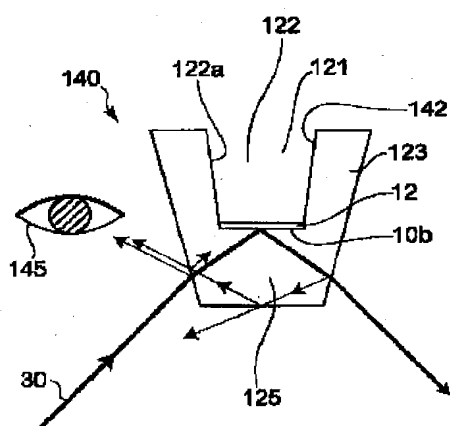
[Drawing 9]



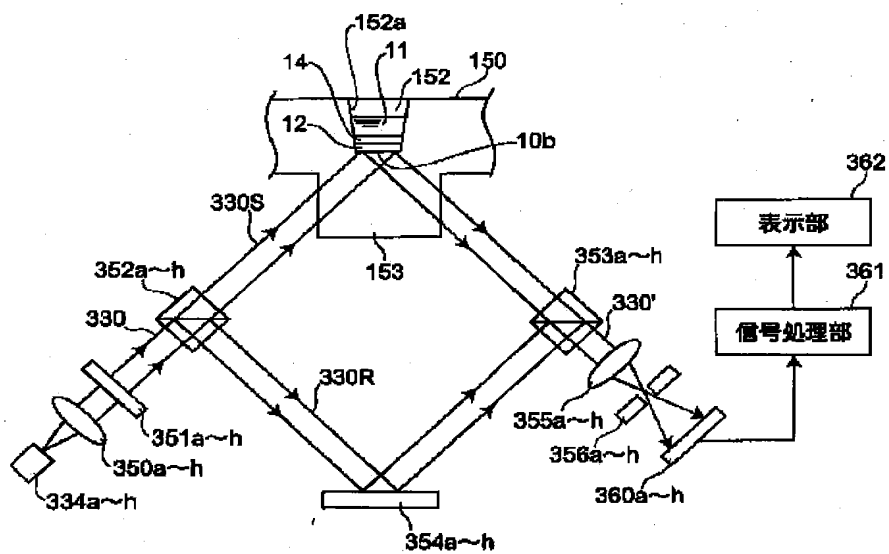
[Drawing 10]



[Drawing 11]



[Drawing 12]



[Translation done.]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2003-344276

(P2003-344276A)

(43) 公開日 平成15年12月3日(2003.12.3)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

識別記号

F I

データベース(参考)

G 0 1 N 21/27

G 0 1 N 21/27

C 2 G 0 5 9

21/01

21/01

B

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 12 頁)

(21) 出願番号 特願2002-157422(P2002-157422)

(22) 出願日 平成14年5月30日(2002.5.30)

(71) 出願人 000005201

富士写真フイルム株式会社

神奈川県南足柄市中沼210番地

(72) 発明者 大塚 尚

神奈川県足柄上郡開成町宮台798番地 富

士写真フイルム株式会社内

(72) 発明者 久保 隆

神奈川県足柄上郡開成町宮台798番地 富

士写真フイルム株式会社内

(74) 代理人 100073184

弁理士 柳田 征史 (外1名)

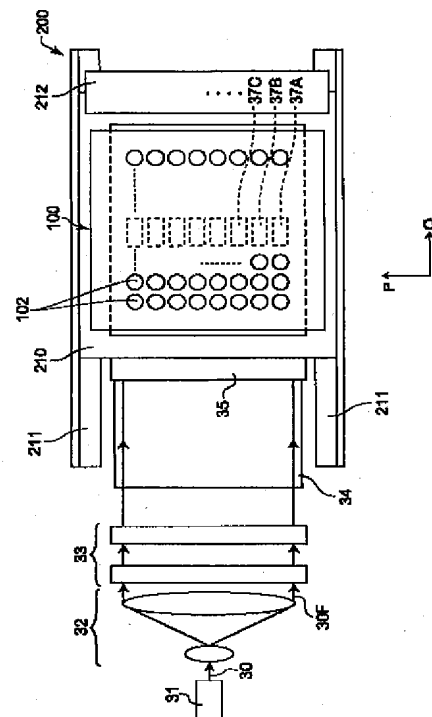
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 測定装置

(57) 【要約】

【課題】 全反射光を利用した測定装置において、試料保持部への液体試料分注時に、試料保持部の内側面に液体試料が付着するのを防ぐ。

【解決手段】 試料保持部および誘電体ブロック部が一体的に形成されてなる測定ユニット(測定用プレート100)の材料として、導電性および透明性を有するポリピロールを用いる。導電性を有する材料を用いたことにより、試料保持部(ウェル102)の、液体試料11が接触する内側面102aにおける帯電を防止することができ、該内側面102aの帯電による液体試料11の滴下不良を防ぐことができる。



## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 光ビームを発生させる光源と、  
前記光ビームに対して透明な誘電体ブロック、この誘電体ブロックの一面に形成された薄膜層、およびこの薄膜層の表面上に液体試料を保持する試料保持部を備えてなる測定ユニットと、

前記光ビームを、前記測定ユニットの前記誘電体ブロックに対して、該誘電体ブロックと前記薄膜層との界面で全反射条件が得られる入射角で入射させる入射光学系と、

前記測定ユニットの前記界面で全反射した光ビームの強度を測定する光検出手段とを備えてなることを特徴とする測定装置において、  
前記試料保持部の、少なくとも前記液体試料と接触する内側面を有する側部が導電性材料からなることを特徴とする測定装置。

【請求項 2】 光ビームを発生させる光源と、  
前記光ビームに対して透明な誘電体ブロック、この誘電体ブロックの一面に形成された薄膜層、およびこの薄膜層の表面上に液体試料を保持する試料保持部を備えてなる測定ユニットと、

前記光ビームを、前記測定ユニットの前記誘電体ブロックに対して、該誘電体ブロックと前記薄膜層との界面で全反射条件が得られる入射角で入射させる入射光学系と、

前記測定ユニットの前記界面で全反射した光ビームの強度を測定する光検出手段とを備えてなることを特徴とする測定装置において、  
前記試料保持部が、該試料保持部の前記液体試料と接触する内側面への帯電を防止する帯電防止手段を備えたことを特徴とする測定装置。

【請求項 3】 光ビームを発生させる光源と、  
前記光ビームに対して透明な誘電体ブロック、この誘電体ブロックの一面に形成された薄膜層、およびこの薄膜層の表面上に液体試料を保持する試料保持部を備えてなる測定ユニットと、

前記光ビームを、前記測定ユニットの前記誘電体ブロックに対して、該誘電体ブロックと前記薄膜層との界面で全反射条件が得られる入射角で入射させる入射光学系と、

前記測定ユニットの前記界面で全反射した光ビームの強度を測定する光検出手段とを備えてなることを特徴とする測定装置において、  
前記試料保持部の前記液体試料と接触する内側面における帯電を除去する帯電除去手段をさらに備えたことを特徴とする測定装置。

【請求項 4】 光ビームを発生させる光源と、  
前記光ビームに対して透明な誘電体ブロック、この誘電体ブロックの一面に形成された薄膜層、およびこの薄膜層の表面上に液体試料を保持する試料保持部を備えてな

る測定ユニットと、

前記光ビームを、前記測定ユニットの前記誘電体ブロックに対して、該誘電体ブロックと前記薄膜層との界面で全反射条件が得られる入射角で入射させる入射光学系と、

前記測定ユニットの前記界面で全反射した光ビームの強度を測定する光検出手段とを備えてなることを特徴とする測定装置において、

前記試料保持部の前記液体試料と接触する内側面が親水性を有していることを特徴とする測定装置。

【請求項 5】 光ビームを発生させる光源と、  
前記光ビームに対して透明な誘電体ブロック、この誘電体ブロックの一面に形成された薄膜層、およびこの薄膜層の表面上に液体試料を保持する試料保持部を備えてなる測定ユニットと、

前記光ビームを、前記測定ユニットの前記誘電体ブロックに対して、該誘電体ブロックと前記薄膜層との界面で全反射条件が得られる入射角で入射させる入射光学系と、

前記測定ユニットの前記界面で全反射した光ビームの強度を測定する光検出手段とを備えてなることを特徴とする測定装置において、

前記試料保持部の前記液体試料と接触する内側面を疎水性を有していることを特徴とする測定装置。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、表面プラズモンの発生を利用して物質の特性を分析する表面プラズモン測定装置等の全反射光によるエバネッセント波の発生を利用した測定装置に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】 金属中においては、自由電子が集団的に振動して、プラズマ波と呼ばれる粗密波が生じる。そして、金属表面に生じるこの粗密波を量子化したものは、表面プラズモンと呼ばれている。

【0003】 従来より、この表面プラズモンが光波によって励起される現象を利用して、被測定物質の特性を分析する表面プラズモン測定装置が種々提案されている。そして、それらの中で特に良く知られているものとし

て、Kretschmann配置と称される系を用いるものが挙げられる（例えば特開平 6-167443 号参照）。

【0004】 上記の系を用いる表面プラズモン測定装置は基本的に、例えばプリズム状に形成された誘電体ブロックと、この誘電体ブロックの一面に形成されて液体試料などの被測定物質に接触させられる金属膜と、光ビームを発生させる光源と、上記光ビームを誘電体ブロックに対して、該誘電体ブロックと金属膜との界面で全反射条件が得られるように種々の角度で入射させる光学系と、上記界面で全反射した光ビームの強度を測定して表面プラズモン共鳴の状態、つまり全反射減衰の状態を検

出する光検出手段とを備えてなるものである。

【0005】なお上述のように種々の入射角を得るためには、比較的細い光ビームを入射角を変化させて上記界面に入射させてもよいし、あるいは光ビームに種々の角度で入射する成分が含まれるように、比較的太い光ビームを上記界面に収束光状態であるいは発散光状態で入射させてもよい。前者の場合は、入射した光ビームの入射角の変化に従って、反射角が変化する光ビームを、上記反射角の変化に同期して移動する小さな光検出器によって検出したり、反射角の変化方向に沿って延びるエリアセンサによって検出することができる。一方後者の場合は、種々の反射角で反射した各光ビームを全て受光できる方向に延びるエリアセンサによって検出することができる。

【0006】上記構成の表面プラズモン測定装置において、光ビームを金属膜に対して全反射角以上の特定入射角で入射させると、該金属膜に接している被測定物質中に電界分布をもつエバネッセント波が生じ、このエバネッセント波によって金属膜と被測定物質との界面に表面プラズモンが励起される。エバネッセント光の波数ベクトルが表面プラズモンの波数と等しくて波数整合が成立しているとき、両者は共鳴状態となり、光のエネルギーが表面プラズモンに移行するので、誘電体ブロックと金属膜との界面で全反射した光の強度が鋭く低下する。この光強度の低下は、一般に上記光検出手段により暗線として検出される。なお上記の共鳴は、入射ビームがp偏光のときにだけ生じる。したがって、光ビームがp偏光で入射するように予め設定しておく必要がある。

【0007】この全反射減衰(ATR)が生じる入射角、すなわち全反射減衰角 $\theta_{sp}$ より表面プラズモンの波数が分かると、被測定物質の誘電率が求められる。すなわち表面プラズモンの波数を $k_{sp}$ 、表面プラズモンの角周波数を $\omega$ 、 $c$ を真空中の光速、 $\epsilon_m$ と $\epsilon_s$ をそれぞれ金属、被測定物質の誘電率とすると、以下の関係がある。

【0008】

【数1】

$$k_{sp}(\omega) = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\epsilon_m(\omega)\epsilon_s}{\epsilon_m(\omega) + \epsilon_s}}$$

すなわち、上記反射光強度が低下する入射角である全反射減衰角 $\theta_{sp}$ を知ることにより、被測定物質の誘電率 $\epsilon$ 、つまりは屈折率に関連する特性を求めることができる。

【0009】また、全反射減衰(ATR)を利用する類似の測定装置として、例えば「分光研究」第47巻第1号(1998)の第21~23頁および第26~27頁に記載がある漏洩モード測定装置も知られている。この漏洩モード測定装置は基本的に、例えばプリズム状に

形成された誘電体ブロックと、この誘電体ブロックの一面に形成されたクラッド層と、このクラッド層の上に形成されて、液体試料に接触させられる光導波層と、光ビームを発生させる光源と、上記光ビームを上記誘電体ブロックに対して、該誘電体ブロックとクラッド層との界面で全反射条件が得られるように種々の角度で入射させる光学系と、上記界面で全反射した光ビームの強度を測定して導波モードの励起状態、つまり全反射減衰状態を検出する光検出手段とを備えてなるものである。

10 【0010】上記構成の漏洩モード測定装置において、光ビームを誘電体ブロックを通してクラッド層に対して全反射角以上の入射角で入射させると、このクラッド層を透過した後に光導波層においては、ある特定の波数を有する特定入射角の光のみが導波モードで伝搬するようになる。こうして導波モードが励起されると、入射光のほとんどが光導波層に取り込まれるので、上記界面で全反射する光の強度が鋭く低下する全反射減衰が生じる。そして導波光の波数は光導波層の上の被測定物質の屈折率に依存するので、全反射減衰が生じる上記特定入射角を知ることで、被測定物質の屈折率や、それに関連する被測定物質の特性を分析することができる。

【0011】なお、表面プラズモン共鳴測定装置もしくは漏洩モード測定装置等の全反射を利用した測定装置としては、光を界面に全反射条件が得られる入射角で入射させ、その光によるエバネッセント波の発生により、界面で全反射した光の状態の変化を測定することにより被測定物質の特性分析等を行うに際して、前述の全反射減衰を生じる特定入射角の測定をする装置のほか、複数の波長の光ビームを界面に入射させ、角波長毎の全反射減衰の程度を検出する装置、あるいは、光ビームを界面に入射させるとともに、この光ビームの一部を、界面入射前に分割し、この分割した光ビームを界面で反射した光ビームと干渉させて、該干渉の状態を測定する装置等種々のタイプがある。

【0012】上述した表面プラズモン共鳴測定装置や漏洩モードセンサー等の測定装置は、創薬研究分野等において、所定のセンシング物質に結合する特定物質を見いだすランダムスクリーニングに使用されることがある。この場合には前記薄膜層(表面プラズモン共鳴測定装置の場合は金属膜であり、漏洩モード測定装置の場合はクラッド層および光導波層)上にセンシング物質を固定した複数の測定チップを用意し、各測定チップのセンシング物質上に互いに被検体を含む液体試料をそれぞれ滴下し、全反射光の状態を測定する。このように、複数の被検体についての測定を行う場合には長時間を要するため、いかに効率よい測定を行うかが重要となる。

【0013】

【発明が解決しようとする課題】上記の問題を解決するために、生化学の分野において酵素免疫測定等に使用されている、96穴、384穴、1536穴等のウェル

(試料保持部)を有するマイクロタイタプレート(マイクロウェルプレート/アッセイプレートともいう)と同一の規格の行列状に測定チップが配置されてなる測定用プレートを利用することが考えられる。このような規格を有するものであれば、従来マイクロタイタプレート用に使われている液体試料を各ウェルに分注するための分注装置等の既存の機器を有効利用することができ、ハンドリング性が向上し、より効率的な測定が可能となる。また、上記のように、96穴、384穴、1536穴とプレート上のウェル数の増加に伴い、個々のウェルは小径化されており、試料の少量化を図ることもできる。

【0014】しかしながら、このように小径のウェルに液体試料を分注する際、ウェルの側面に液滴が付着してしまい、試料が薄膜層上に接触せず、正しい測定結果が得られないという不具合の発生が明らかになった。このような測定不良が生じると測定のやり直し、あるいはウェル内の試料が薄膜層上に届いているかどうかを確認するための内部観察等を行う必要が生じ、測定時間の短縮化を阻害することになる。試料の滴下不良は、ウェルの小型化に伴い液体試料が少量化されると特に顕著となる。

【0015】この試料の滴下不良は、主としてウェルの側面の帯電(静電気)の影響と考えられる。また、試料の少量化により、液滴の自重が側面の表面張力より小さくなることの影響も考えられる。

【0016】本発明は上記の事情に鑑みて、試料保持部の液体試料と接触する内側面における帯電(静電気)、もしくは液体試料の少量化による滴下不良を防止した測定装置を提供することを目的とする。

【0017】

【課題を解決するための手段】本発明の第1の測定装置は、光ビームを発生させる光源と、前記光ビームに対して透明な誘電体ブロック、この誘電体ブロックの一面に形成された薄膜層、およびこの薄膜層の表面上に液体試料を保持する試料保持部を備えてなる測定ユニットと、前記光ビームを、前記測定ユニットの前記誘電体ブロックに対して、該誘電体ブロックと前記薄膜層との界面で全反射条件が得られる入射角で入射させる入射光学系と、前記測定ユニットの前記界面で全反射した光ビームの強度を測定する光検出手段とを備えてなることを特徴とする測定装置において、前記試料保持部の、少なくとも前記液体試料と接触する内側面を有する側部が導電性材料からなることを特徴とするものである。

【0018】導電性材料としては、例えばポリピロール等の導電性樹脂を用いることができる。

【0019】本発明の第2の測定装置は、光ビームを発生させる光源と、前記光ビームに対して透明な誘電体ブロック、この誘電体ブロックの一面に形成された薄膜層、およびこの薄膜層の表面上に液体試料を保持する試

料保持部を備えてなる測定ユニットと、前記光ビームを、前記測定ユニットの前記誘電体ブロックに対して、該誘電体ブロックと前記薄膜層との界面で全反射条件が得られる入射角で入射させる入射光学系と、前記測定ユニットの前記界面で全反射した光ビームの強度を測定する光検出手段とを備えてなることを特徴とする測定装置において、前記試料保持部が、該試料保持部の前記液体試料と接触する内側面への帯電を防止する帯電防止手段を備えたことを特徴とするものである。

10 【0020】合成樹脂等の高分子材料においては、表面に凹凸を付けること(表面を粗面化すること)により帯電量を減少させる効果があることが知られており(例えば、「表面・高分子と静電気」共立出版)参照)、前記試料保持部の、少なくとも前記液体試料と接触する内側面を有する側部が、合成樹脂等の高分子材料により形成されている場合、粗面化された内側面により前記帯電防止手段を構成することができる。具体的な粗面化の方法としては、押し型を用いたり、微量の無機粉体を混入したり、あるいは結晶状態を制御して表面粗さを変える方法等が挙げられる。

20 【0021】また、前記内側面全体に亘って被膜された導電性膜により前記帯電防止手段を構成するようにしてもよい。

【0022】本発明の第3の測定装置は、光ビームを発生させる光源と、前記光ビームに対して透明な誘電体ブロック、この誘電体ブロックの一面に形成された薄膜層、およびこの薄膜層の表面上に液体試料を保持する試料保持部を備えてなる測定ユニットと、前記光ビームを、前記測定ユニットの前記誘電体ブロックに対して、該誘電体ブロックと前記薄膜層との界面で全反射条件が得られる入射角で入射させる入射光学系と、前記測定ユニットの前記界面で全反射した光ビームの強度を測定する光検出手段とを備えてなることを特徴とする測定装置において、前記試料保持部の前記液体試料と接触する内側面における帯電を除去する帯電除去手段をさらに備えたことを特徴とするものである。

【0023】帯電除去手段としては、例えばイオン照射手段、導電マット等が挙げられる。

【0024】前記試料保持部への液体試料分注前に、該試料保持部へのイオン照射を行う、あるいは該試料保持部を導電マットに接触させる等により、該試料保持部の前記内側面への帯電を除去すればよい。

【0025】本発明の第4の測定装置は、光ビームを発生させる光源と、前記光ビームに対して透明な誘電体ブロック、この誘電体ブロックの一面に形成された薄膜層、およびこの薄膜層の表面上に液体試料を保持する試料保持部を備えてなる測定ユニットと、前記光ビームを、前記測定ユニットの前記誘電体ブロックに対して、該誘電体ブロックと前記薄膜層との界面で全反射条件が得られる入射角で入射させる入射光学系と、前記測定ユ



ニットの前記界面で全反射した光ビームの強度を測定する光検出手段とを備えてなることを特徴とする測定装置において、前記試料保持部の前記液体試料と接触する内側面が親水性を有していることを特徴とするものである。

【0026】親水性を有する内側面は、例えば、該内側面を、酸化チタン、界面活性剤、 $\text{SiO}_2$ 等の親水性の材料で被膜することにより得ることができる。

【0027】本発明の第5の測定装置は、光ビームを発生させる光源と、前記光ビームに対して透明な誘電体ブロック、この誘電体ブロックの一面に形成された薄膜層、およびこの薄膜層の表面上に液体試料を保持する試料保持部を備えてなる測定ユニットと、前記光ビームを、前記測定ユニットの前記誘電体ブロックに対して、該誘電体ブロックと前記薄膜層との界面で全反射条件が得られる入射角で入射させる入射光学系と、前記測定ユニットの前記界面で全反射した光ビームの強度を測定する光検出手段とを備えてなることを特徴とする測定装置において、前記試料保持部の前記液体試料と接触する内側面が疎水性を有することを特徴とするものである。

【0028】疎水性を有する内側面は、例えば、該内側面を、テフロン（登録商標）、シリコン等の疎水性の材料で被膜することにより得ることができる。

【0029】記各測定装置は、上記薄膜層を、金属膜からなるものとし、前述の表面プラズモン共鳴による効果を利用して測定を行なうように構成されたものとしてもよい。

【0030】また、上記各測定装置は、上記薄膜層を、誘電体ブロックの前記上面に形成されたクラッド層と該クラッド層上に形成された光導波層からなるものとし、該光導波層における導波モードの励起による効果を利用して測定を行なうように構成されたものとしてもよい。

【0031】またさらに、本発明による測定装置においては、光検出手段により前記界面で全反射した光ビームの強度を測定して試料の分析を行うには種々の方法があり、例えば、光ビームを前記界面で全反射条件が得られる種々の入射角で入射させ、各入射角に対応した位置毎に前記界面で全反射した光ビームの強度を測定して、全反射減衰により発生した暗線の位置（角度）を検出することにより試料分析を行ってもよいし、D.V.Noort, K. Johansen, C.-F.Mandenius, Porous Gold in Surface Plasmon Resonance Measurement, EUROSENSORS XIII, 1999, pp.585-588 に記載されているように、複数の波長の光ビームを前記界面で全反射条件が得られる入射角で入射させ、各波長毎に前記界面で全反射した光ビームの強度を測定して、各波長毎の全反射減衰の程度を検出することにより試料分析を行ってもよい。

【0032】また、P.I.Nikitin, A.N.Grigorenko, A.A.Beloglazov, M.V.Valeiko, A.I.Savchuk, O.A.Savchuk, Surface Plasmon Resonance Interferometry for Micro-Ar

rayBiosensing, EUROSENSORS XIII, 1999, pp.235-238 に記載されているように、光ビームを前記界面で全反射条件が得られる入射角で入射させるとともに、この光ビームの一部を、この光ビームが前記界面に入射する前に分割し、この分割した光ビームを、前記界面で全反射した光ビームと干渉させて、その干渉後の光ビームの強度を測定することにより試料分析を行ってもよい。

【0033】

【発明の効果】本発明の第1の測定装置は、試料保持部の、少なくとも液体試料と接触する内側面を有する側面が導電性材料からなるため、帯電を防止することができ、試料保持部への液体試料分注時に、試料が側面に付着して薄膜層に接触しないという不具合を防止することができる。

【0034】本発明の第2の測定装置は、試料保持部が、該試料保持部の液体試料と接触する内側面への帯電を防止する帯電防止手段を備えているため、試料保持部への液体試料分注時に、試料が側面に付着して薄膜層に接触しないという不具合を防止することができる。

【0035】本発明の第3の測定装置は、試料保持部の液体試料と接触する内側面の帯電を除去する帯電除去手段を備えているので、試料保持部への液体試料分注前に、該試料保持部の内側面における帯電を除去することができ、試料保持部への液体試料分注時に、試料が側面に付着して薄膜層に接触しないという不具合を防止することができる。

【0036】本発明の第4の測定装置は、試料保持部の液体試料と接触する内側面が親水性を有していることにより、該内側面のぬれ性を向上させ、試料保持部への液体試料分注時に、一旦液体試料が内側面に付着しても該内側面をつたって薄膜層上に滴下させることができ、試料が少量であることから該試料が側面に付着して薄膜層に接触しないという不具合を防止することができる。

【0037】本発明の第5の測定装置は、試料保持部の液体試料と接触する内側面が疎水性を有していることにより、試料保持部への液体分注時に、試料液滴の側面への付着を防止して、液体試料が薄膜層に接触しないという不具合を防止することができる。

【0038】このように、本発明の各測定装置は、試料液滴が試料保持部の内側面に付着するという液滴の落下不良による測定不良を低減することができるので、該測定不良のための測定のやり直し等に要する時間を短縮することができる。

【0039】

【発明の実施の形態】以下、図面を参照して本発明の実施の形態を詳細に説明する。

【0040】図1は、本発明の第1の実施形態の測定装置の概略構成を示す平面図、図2は側面形状、図3は第1の実施形態の測定装置に用いられる測定用プレートの斜視図である。図3に示すように、本測定用プレート10

0は、マイクロタイタプレートの所定の規格と同一の外形を有するプレート基体101の表面に、96個のウェル102が所定の規格にしたがったピッチおよび8行12列(8×12)の行列状に配されている。試料保持部を構成するウェル102は、基体101上面から下方に徐々に径の小さくなる断面円形の形状を有するものであり、このウェル102の底部内面に金属膜12が形成され、底部外面に誘電体ブロック103が形成されている。

【0041】図示の通り、誘電体ブロック103は、プレート基体101と一体となっており、ウェル102の底を厚く凸状に形成することにより構成されたものである。個々のウェル102と該ウェル102に対応する誘電体ブロック103により、1つの測定ユニットが構成されており、すなわち、本測定用プレート100は複数の測定ユニットが一体的に形成されてなるものである。

【0042】このプレート100の材料としては、導電性および透明性を有するポリピロールが用いられている。誘電体ブロック103は、所定の光ビームをウェル102の底部内面に形成された金属膜12とウェル底面との界面10bに入射させる入射面103aおよび該界面10bにおいて全反射した光ビームを射出させる出射面103bを有するものである。誘電体ブロック103は、各ウェル102毎に個別に形成されていてもよいし、図中P方向に並ぶ複数個(ここでは8個)のウェル102に亘って連続的に形成されていてもよい。

【0043】本測定用プレート100は、マイクロタイタプレートの規格と同一の外寸およびウェル102を備えているので、ウェル102に液体試料11を供給する手段として、図4に示すような分注機50を使用することができる。この分注機50は、8本の分注ノズル51が、所定ピッチで支持部材52に支持されてなるものであり、従来のマイクロタイタプレートを用いて行うエライザ(elisa)等において用いられる分注機である。このように、本測定用プレート100を測定ユニットとして用いれば、従来マイクロタイタプレート用に使用されている分注機等の周辺機器を利用することができる。

【0044】本測定用プレート100は、ポリピロールを材料として形成されており、ポリピロールは光ビームに対する透明性に優れているため、光ビームの透過率を向上させることができるとともに、導電性を有しているため、帯電を防止することができる。プレート100の帯電が防止されている、すなわち、ウェル102の内側面102aにおける帯電が防止されているため、分注機50による液体試料11の分注時に、液体試料11が静電気によりウェル102の側面102aに付着するという問題を低減することができ、液滴不良による測定不良を低減することができる。

【0045】図1および図2に示す表面プラズモンセンサーは、上述の測定用プレート100と、測定用の光ビーム(レーザビーム)30を発生させる半導体レーザ等のレ

ーザ光源31、光ビーム30を測定用プレート100のP方向に並ぶ8つのウェル102の界面10bに入射させるための、入射光学系を構成する2組のシリンドリカルビームエキスパンダ32および33、ミラー34およびシリンドリカルレンズ35からなる入射光学系、各ウェル102の界面10bで反射した光ビームを受光する、各ウェル102に対応して設けられた8つの光検出手段37A~H、および測定用プレート100を、光源31、入射光学系および光検出手段37A~Hからなる測定系に対して相対的に移動させる測定用プレート移動手段200を備えている。

【0046】測定用プレート移動手段200は、測定用プレート送り台210、1対のレール211、211、駆動手段212により構成されており、測定用プレート100は、測定用プレート送り台210の上の所定位置にセットされる。この測定用プレート送り台210は、矢印P方向に延びる状態に配設された1対のレール211、211上に載置され、駆動手段212により、これらのレール211、211に沿って移動可能とされている。

【0047】測定用プレート100において矢印P方向に並んだ複数(本例では8個)のウェル102の底面には、扁平化された1本の光ビーム30Fが同時に入射する。すなわち、1つのレーザ光源20から発散光状態で発せられた光ビーム30はシリンドリカルビームエキスパンダ32により図1に示される面内のみで径が拡大され、上記8個のウェル102の底面に同時入射可能なサイズまで扁平化される。

【0048】そしてこの扁平化された光ビーム30Fは、次にシリンドリカルビームエキスパンダ33により図2に示される面内のみで径が拡大され、大きなミラー34で反射して進行方向を変えた後、シリンドリカルレンズ35により図2に示される面内のみで集光される。それにより光ビーム30Fは、8個のウェル102の金属膜12と誘電体ブロック103との界面10bに対して、種々の入射角成分を持った状態で入射する。なおレーザ光源31は、直線偏光である光ビーム30がp偏光状態で上記界面に入射するようになる向きに配設されている。

【0049】光検出手段37A~Hは、それぞれ多数の受光素子が1列に配されてなるラインセンサから構成されており、受光素子の並び方向が図2中の矢印X方向となるように配されている。前記各ウェルの界面で全反射した光ビーム30がそれぞれに対応する光検出手段37A~Hで検出される。これらの光検出手段37A~Hの出力は、それぞれ信号処理部61で処理され、試料中の特定物質の有無等の結果が表示手段62に表示される。

【0050】なお本実施の形態では、光源としてレーザ光源31を1つだけ用いているが、例えば光源を2個設け、1つの光源からの光ビームを4つのウェル102の底面に入射し得る幅まで扁平化し、別の光源からの光ビームを別の4つのウェル102の底面に入射し得る幅まで扁平化するようにしても構わない。

【0051】また、1つの光源からの光ビームを8つに分岐させて、それぞれのウェルの底面に光ビームをが並列的に入射させるようにしてもよい。また、各ウェルの数だけ光源を設け、それぞれの光源からの光ビームを各ウェルに入射させるようにしてもよい。

【0052】以下、上記構成の表面プラズモンセンサーによる試料分析について説明する。測定対象となる試料は、図2に示した分注機50により、ウェル102に供給される。

【0053】試料11を保持しているウェル102が、その誘電体ブロック103に光ビーム30が入射する測定位置に移動手段により設置された状態で、レーザ光源31が駆動され、そこから発せられた光ビーム30が前述のように扁平化され、収束状態で、界面10bに入射する。この界面10bで全反射した光ビーム30は、それぞれ光検出手段37A~Hによって検出される。

【0054】光ビーム30は、上述の通り収束光状態で誘電体ブロック103に入射するので、上記界面10bに対して種々の入射角 $\theta$ で入射する成分を含む。なおこの入射角 $\theta$ は、全反射角以上の角度とされる。そこで、光ビーム30は界面10bで全反射し、この反射した光ビーム30には、種々の反射角で反射する成分が含まれることになる。

【0055】このように光ビーム30が全反射するとき、界面10bから金属膜12側にエバネッセント波がしみ出す。そして、光ビーム30が界面10bに対してある特定の入射角 $\theta_{sp}$ で入射した場合は、このエバネッセント波が金属膜12の表面に励起する表面プラズモンと共鳴するので、この光については反射光強度 $I$ が鋭く低下する。なお図5には、この全反射減衰現象が生じた際の入射角 $\theta$ と反射光強度 $I$ との関係を概略的に示してある。

【0056】そこで、光検出手段37A~Hが出力する光量検出信号 $S$ から各受光素子毎の検出光量を調べ、暗線を検出した受光素子の位置に基づいて上記入射角（全反射減衰角） $\theta_{sp}$ を求め、予め求めておいた反射光強度 $I$ と入射角 $\theta$ との関係曲線に基づけば、試料中の特定物質を定量分析することができる。なお、本実施形態においては、金属膜12の上に特定物質と結合するセンシング物質14を予め固定しており、このセンシング物質14上に被検体を含む液体試料11を滴下し、表面プラズモン共鳴による全反射減衰角 $\theta_{sp}$ の角度変化量を測定することにより、センシング物質14と被検体の結合の有無、すなわち被検体が特定物質であるか否かを判定するように構成されている。センシング物質と特定物質の結合には、例えば抗原抗体反応等が挙げられる。

【0057】つまりこの場合は、上記特定物質とセンシング物質14との結合状態に応じてセンシング物質14の屈折率が変化して、図5の特性曲線が左右方向に移動する形に変化するので、全反射減衰角 $\theta_{sp}$ に応じて抗原抗体反応を検出することができる。なおこの場合は、試料11

およびセンシング物質14の双方が、分析対象の試料となる。

【0058】以上の原理に基づいて本実施形態の測定装置においては、信号処理部61においてセンシング物質14と試料11中の特定物質との結合の有無を分析し、その分析結果を表示部62に出力する。

【0059】本実施の形態においては、以上のようにして、8つのウェル102に貯えられている試料に関する測定を相並行して行なうことができる。そして、これらの測定が終了したならば、一旦レーザ光源31の駆動が停止され、次に駆動手段212が作動して測定用プレート送上台210が（つまり測定用プレート100が）、図1、図2中の矢印Q方向に、ウェル102の配置ピッチ分だけ送られる。その状態になるとレーザ光源31が再度駆動され、それにより、新たな8つの試料に関する測定がなされる。このようにして本実施の形態においても、多数の試料に関する測定を極めて能率良く、短時間内に行なうことが可能となっている。

【0060】本表面プラズモンセンサーにおいては、測定用プレート100が、ポリピロールから形成されていることからウェル102の側面102aに帯電することなく、帯電による液滴の落下不良を起こさず、測定不良を低減させ、測定の信頼性を向上させることができる。

【0061】図6は、本発明の測定用プレート100'を用いた全反射減衰を利用した測定装置の他の形態である漏洩モードセンサーの概略図である。なお同図においては、図2中に示されているものと同等の要素については同符号を付し、詳細な説明を省略する。

【0062】測定用プレート100'は、第1の実施形態で示した測定用プレート100と同一のポリピロールを材料とし略同一の形状を有しており、ウェル102の底部内面に設けられた薄膜層が、クラッド層41とその上に設けられた光導波層42とからなる点でのみ異なる。このクラッド層41は、誘電体ブロック103よりも低屈折率の誘電体や、金等の金属を用いて薄膜状に形成されている。また光導波層42は、クラッド層41よりも高屈折率の誘電体、例えばPMMAを用いて薄膜状に形成されている。クラッド層41の膜厚は、例えば金薄膜から形成する場合で36.5nm、光導波層42の膜厚は、例えばPMMAから形成する場合で700nm程度とされる。

【0063】図6に示す漏洩モードセンサーにおいて、試料11を保持するウェル102が所定位置に設置された状態で測定が行われる。レーザ光源20から出射した光ビーム30を誘電体ブロック103を通してクラッド層41に対して全反射角以上の入射角で入射させると、該光ビーム30が誘電体ブロック103とクラッド層41との界面10bで全反射するが、クラッド層41を透過して光導波層42に特定入射角で入射した特定波数の光は、該光導波層42を導波モードで伝搬するようになる。こうして導波モードが励起されると、入射光のほとんどが光導波層42に取り込ま

れるので、上記界面10bで全反射する光の強度が鋭く低下する全反射減衰が生じる。

【0064】光導波層42における導波光の波数は、該光導波層42の上の試料（ここではセンシング物質14）の屈折率に依存するので、全反射減衰が生じる上記特定入射角を知ることによって、試料の屈折率や、それに関連する試料の特性を分析することができる。

【0065】なお、本実施形態においては、上記第1の実施形態と同様に光導波層42上に特定物質と結合するセンシング物質14を予め固定しており、このセンシング物質14上に被検体を含む液体試料11を滴下し、導波モードの励起による全反射減衰角 $\theta_{sp}$ の角度変化量を測定することにより、センシング物質14と被検体の結合の有無、すなわち被検体が特定物質であるか否かを判定するように構成されている。

【0066】以上の原理に基づいて本実施形態の測定装置においては、信号処理部61においてセンシング物質14と試料11中の特定物質との結合の有無を分析し、その分析結果を表示部62に出力する。

【0067】この漏洩モードセンサーにおいても、ポリピロールを用いて形成された測定用プレート100'を用いることにより、ウェル102における帯電、すなわちウェル102の内側面102aにおける帯電が防止されて液滴の落下不良を低減し、測定不良を低減させ、測定の信頼性を向上させることができる。

【0068】上記実施形態においては、複数の測定ユニットが一体的に形成された測定用プレートを例に挙げて説明したが、測定ユニットは、1つの試料保持部（ウェル）と誘電体ブロックからなるものであってもよい。また、試料保持部と誘電体ブロックとが別体に構成されて

いてもよい。

【0069】以下、第3～7の実施形態の測定装置は、その測定ユニットの帯電防止手段もしくは除電手段のみが上述の第1の実施形態の測定装置と異なるものであるため、第1の実施形態との相違点のみ説明する。

【0070】第3の実施形態の測定装置の測定ユニット110は、図7に断面図を示すように、試料保持部（ウェル）112の内側面112aを構成する側部113と、金属膜12が形成される面を有するガラス基板114と、該ガラス基板114の下部に備えられた誘電体ブロックである半円柱状のプリズム115とのそれぞれ別体の部品から構成されており、側部113が金属膜12を備えたガラス基板114上に押しつけられた状態で試料保持部112を構成し、この側部113がポリピロール等の導電性の材料で形成されている。このように、試料保持部112の側部113が導電性であれば、前述の測定用プレート100と同様に試料保持部の内側面の帯電が防止され、試料の液滴の落下不良を低減することができる。図7に示すように、試料保持部112の内側面112aを構成する側部113、ガラス基板114、プリズム115が別体であれば、試料保持部112の内側面112

aを構成する側部113は導電性を有するものであれば、光透過素材を用いる必要はないため、材料選択の自由度を大きくすることができる。

【0071】第4の実施形態の測定装置の測定ユニット120は、図8に断面図を示すように、合成樹脂等で形成された倒立截頭四角錐形状をしており、上部に試料保持部（ウェル）122を構成する穴121が形成され、試料保持部122の下部が誘電体ブロック125を構成するものである。本測定ユニット120は、該試料保持部122の内側面122aおよび側部123の上面123aに亘って導電性膜124が被膜されている。すなわち、本実施形態においては、この導電性膜124により帯電防止手段が構成されている。内側面および上面に被膜された導電性膜124として帯電を防止し、さらに、試料分注前に金属製の放電用部材等に接触させることにより、より効果的に静電気による試料液滴の落下不良を低減することができる。放電用部材としては、測定ユニット120を試料分注時に保持するための金属製のホルダー等を利用してもよい。

【0072】なお、この導電性膜124は、ウェル底面への金属膜12の蒸着時に同時に蒸着を行うようにすれば作成工程の工数およびコストの増加を伴うことなく実現することができる。

【0073】第5の実施形態の測定装置の測定ユニット120'は、図9に断面図を示すように、図8に示した測定ユニット120と略同一の形状をしている。但し、試料保持部122の内側面122aに導電性膜を備えず、該内側面122aが粗面とされている。合成樹脂等の高分子材料においては、表面に細かい凹凸を付ける（粗面化する）ことが帯電量を減少させる効果があり、本実施形態においては粗面化された内側面122aが帯電防止手段を構成する。試料保持部122の内側面122aを粗面としたことにより、該内側面122aの帯電を防止（低減）することができ、静電気による試料液滴の落下不良を低減することができる。

【0074】第6の実施形態の測定装置は、図10に斜視図を示すように、測定ユニットの試料保持部に帯電する電荷を除電するための除電手段としてイオン照射手段135を備えてなることを特徴とするものである。ここで示す測定用プレート130は、図3で示した測定用プレートと略同形状のものであり、樹脂等により形成されたものである。測定用プレート130のウェル132への試料分注前に、イオン照射手段135により、ウェル132に帯電している帯電電荷を中和させる電荷を有するイオンをウェル132に照射する。このようにして、試料分注前に、ウェル132内の帯電電荷の除電を行うことにより、試料分注時における試料の液滴の落下不良を低減することができる。

【0075】第7の実施形態の測定装置の測定ユニット140は、図11に断面図を示すように、図8に示した測定ユニット120と略同一の形状をしている。但し、試料

保持部122の内側面122aに導電性膜を備えず、該内側面122aが全面に亘ってSiO<sub>2</sub>等の親水性膜142によりコーティングされて親水性の処理が施されている。コーティングする親水性の材料としてはその他、酸化チタン、界面活性剤等を用いてもよい。試料保持部122の小径化に伴い、液体試料の分注量が微量（例えば10μl）になると、一旦液滴が側面に付着すると、自重では底面まで落ちない場合がある。そのため、親水性の材料でコーティングすることにより、側面122aのぬれ性を高くして、一旦液滴が側面122aに付着した場合にも液滴をウェル底面へ落下させる効果を得ることができる。

【0076】なお、SiO<sub>2</sub>膜は、試料保持部側面のみならず、測定ユニット140の表面全面に亘って設けることにより反射防止膜としても効果を奏する。図11で示すような試料保持部122と誘電体ブロック部125が一体型の合成樹脂材料で構成された測定ユニット140は、図7で示した別体型の測定ユニット110のプリズム115等の従来のガラス部材に比べ屈折率が小さいため光に対する反射率が高く（すなわち透過率が低く）、測定感度が低くなる虞がある。また、図示のように光ビーム30の入射面、出射面等において反射した反射光が測定用光ビームと干渉し、ノイズが発生するという問題があり、また、光ビームが赤外光などの不可視光の場合、実験者が反射光等に気がつかず目145を近づけてしまい、反射光が実験者の目に入る虞もある。しかしながら、SiO<sub>2</sub>膜等の反射防止膜を設けたことにより、信号光の光量を増加させると共に、測定用光ビームと反射光との干渉を抑制して信号ノイズを低減することができ、また、反射光に対する安全性を向上させることができる。なお、反射防止膜としては、一般のプラスチックレンズ用の低反射膜であれば

SiO<sub>2</sub>に限らずいかなる膜を用いてもよい。

【0077】なお、上述の各実施形態の全反射光を利用した測定装置は、光源からの光ビームを界面に対して種々の角度で入射させ、該界面からの反射光を測定し暗線となる入射角度から全反射減衰の状態を測定して被検体とセンシング物質との結合状態を得るものであるが、光ビームの入射角度を界面で全反射条件を満たす所定の角度とし、種々の波長を有する光ビームを入射させる、もしくは入射させる光ビームの波長を変化させ、界面からの反射光を測定し、各波長毎の全反射減衰の状態により被検体とセンシング物質との結合状態を得るようにしてもよい。

【0078】また、さらに別の測定系を備えた表面プラズモンセンサーを、本発明の第8の実施形態として説明する。

【0079】本実施の形態による表面プラズモンセンサーは、図1に示す第1の実施の形態で示した表面プラズモンセンサーの測定用プレートと同一形状の測定用プレート150を備え、8つのウェルに対する測定を同時に行うよう構成されている。

【0080】本実施形態の測定装置の測定用プレート150は、例えば合成樹脂等により構成されており、ウェル152の内側面152aに疎水性処理が施されている。ウェルの152の内側面152aが全面に亘ってテフロン（登録商標）、シリコン等の疎水性材料によりコーティングされている。ウェル152の内側面152aを疎水性の材料でコーティングすることにより、試料の液滴が側面に付着するのを防止し、液滴を効果的にウェル底面へ落下させることができ、液滴の落下不良を低減して、該液滴の落下不良に伴う測定不良を低減することができる。

【0081】図12に側面形状を示すように、本実施の形態の表面プラズモンセンサーの測定位置には、それぞれ左右から誘電体ブロック153を挟む形で、複数の光源334a～hとCCD360a～hとが配設されており、これら光源334a～hとCCD360a～hとの間には、コリメータレンズ350a～h、干渉光学系、集光レンズ355a～hおよびアパーチャー356a～hが配設されている。なお、図示していないが、本表面プラズモンセンサーにおいても測定用プレート150を移動させるための図1および図2に示した表面プラズモンセンサーと同様の測定用プレート移動手段が備えられている。

【0082】上記干渉光学系は、偏光フィルタ351a～h、ハーフミラー352a～h、ハーフミラー353a～hおよびミラー354a～hにより構成されている。

【0083】さらに、CCD360a～hは信号処理部361に接続されており、信号処理部361は表示部362に接続されている。

【0084】以下、本実施の形態の表面プラズモンセンサーにおける試料の測定について説明する。なおここでは、測定用プレートのウェルのうち、光源334aおよびCCD360aに整合する状態とされた1つのウェル152を例に取って説明を行なうが、その他のウェル152においても測定は同様になされる。

【0085】光源334aが駆動されて光ビーム330が発散光の状態に出射される。この光ビーム330はコリメータレンズ350aにより平行光化されて偏光フィルタ351aに入射する。偏光フィルタ351aを透過して界面10bに対してp偏光で入射するようにされた光ビーム330は、ハーフミラー352aにより一部がレファレンス光ビーム330Rとして分割され、ハーフミラー352aを透過した残りの光ビーム330Sは界面10bに入射する。界面10bで全反射した光ビーム330Sおよびミラー354aで反射したレファレンス光ビーム330Rはハーフミラー353aに入射して合成される。合成された光ビーム330'は集光レンズ355aにより集光され、アパーチャー356aを通過してCCD360aによって検出される。このとき、CCD360aで検出される光ビーム330'は、光ビーム330Sとレファレンス光ビーム330Rとの干渉の状態に応じて干渉縞を発生させる。

【0086】ここで、金属膜12の表面に固定されている

センシング物質14は、試料中の特定物質と結合するものであり、液体試料分注後から継続的に測定し、CCD360aにより検出される干渉縞の変化を検出することにより、センシング物質と特定物質の結合の有無を検出することができる。つまりこの場合は、上記特定物質とセンシング物質14との結合状態に応じてセンシング物質14の屈折率が変化すると、界面10bで全反射した光ビーム330Sおよびレファレンス光ビーム330Rがハーフミラー353aにより合成される際に、干渉の状態が変化するため、上記干渉縞の変化に応じて結合状態を検出することができる。

【0087】信号処理部361は、以上の原理に基づいて上記反応の有無を検出し、その結果が表示部362に表示される。

【0088】以上の測定操作は他の7個のウェル152に対しても並行して同様になされ、8個のウェル152に貯えられている試料に対する測定が同時になされる。なお、8個のウェル152に対する光ビーム330の照射および反応の有無の検出は、互いに厳密に同時に行なう必要はなく、開始あるいは終了の時間が互いに多少ずれていても構わない。

【0089】なお信号処理部361は、8個のCCD360a～hに対してそれぞれ専用のものを設けてもよいし、あるいは8個のCCD360a～hに対して共用のものを1個だけ設けて、それらのCCD360a～hが出力した光量検出信号Sを順次処理するようにしても構わない。

【0090】その後、図示しない移動手段により測定用プレート150を測定系に対して移動させ、次に測定に供されるウェル152が測定系に対して所定位置となるようにする。このようにして複数のウェル152を、測定用プレート150の移動にともなって次々と測定に供する。

【図面の簡単な説明】

【図1】第1の実施形態の測定装置である表面プラズモンセンサーの平面図

【図2】図1の表面プラズモンセンサーの概略を示す側面図

【図3】測定用プレートの斜視図

\*

\* 【図4】測定用プレートおよび分注機の側面図

【図5】光ビームの入射角度と反射光強度との関係図

【図6】第2の実施形態の測定装置である漏洩モードセンサーの側面図

【図7】第3の実施形態の測定装置の測定ユニットの断面図

【図8】第4の実施形態の測定装置の測定ユニットの断面図

【図9】第5の実施形態の測定装置の測定ユニットの断面図

【図10】第6の実施形態の測定装置の測定ユニットの断面図

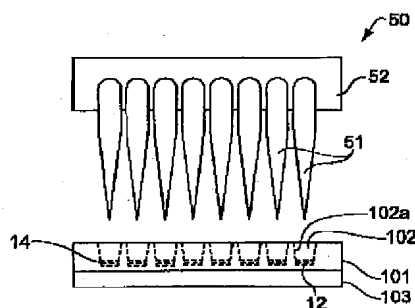
【図11】第7の実施形態の測定装置の測定ユニットの断面図

【図12】第8の実施形態の測定装置である表面プラズモンセンサーの側面図

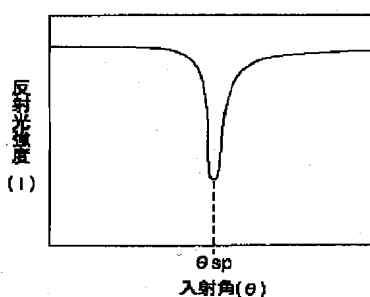
【符号の説明】

- 11 液体試料
- 12 金属膜
- 14 センシング物質
- 30 光ビーム
- 31 レーザ光源
- 32、33 シリンドリカルビームエキスパンダ
- 34 ミラー
- 35 シリンドリカルレンズ
- 37A～H 光検出手段
- 41 クラッド層
- 42 光導波層
- 50 分注機
- 61 信号処理部
- 62 表示手段
- 100 測定用プレート
- 101 プレート
- 102 ウェル（試料保持部）
- 102a ウェルの内側面
- 103 誘電体ブロック

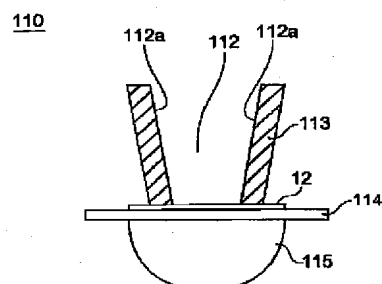
【図4】



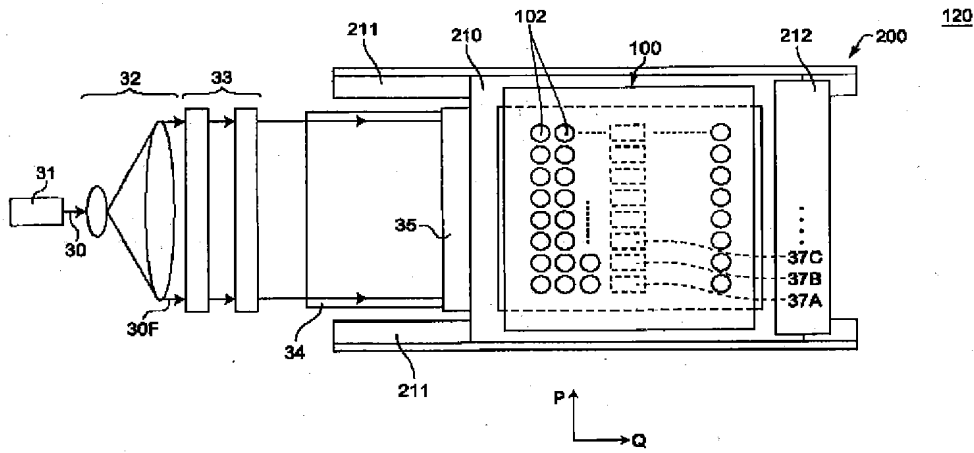
【図5】



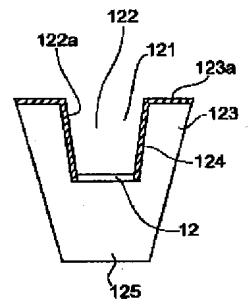
【図7】



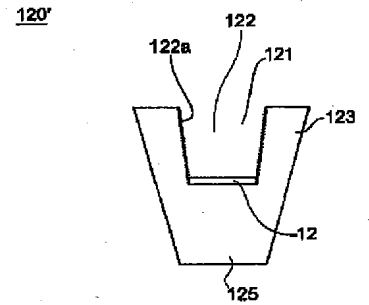
【図 1】



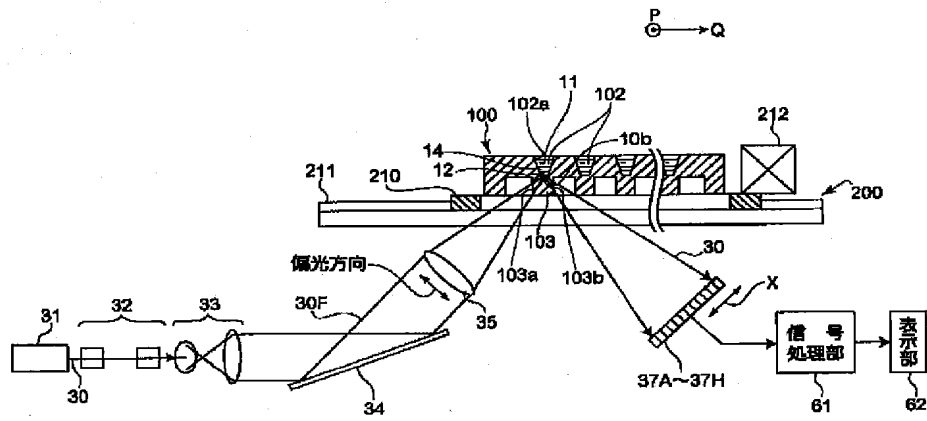
【图 8】



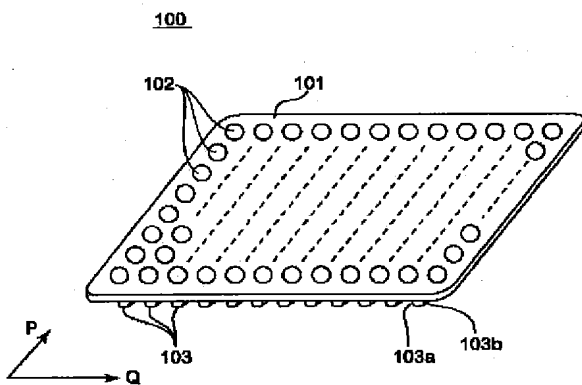
【图 9】



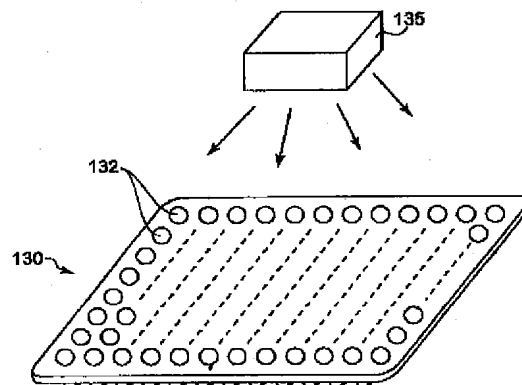
【図 2】



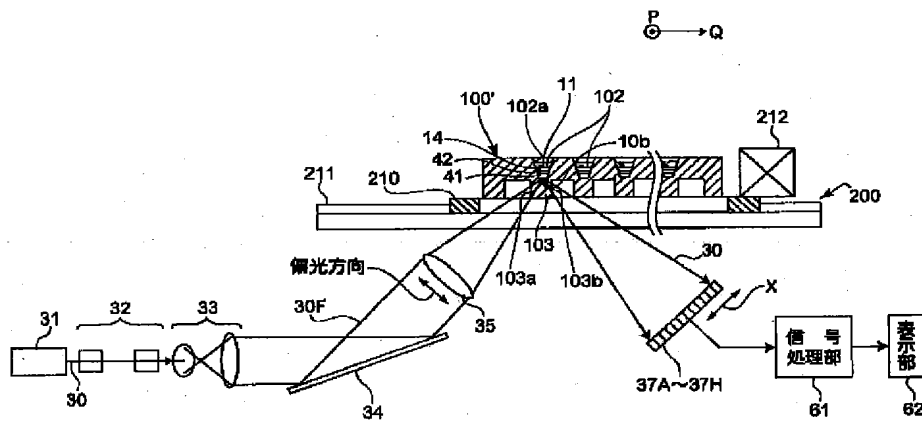
【図 3】



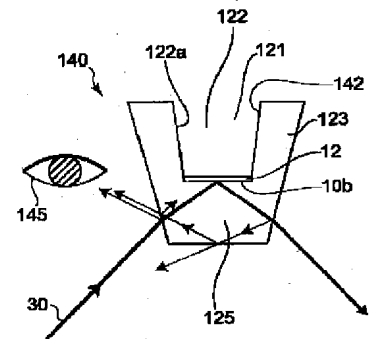
【図 10】



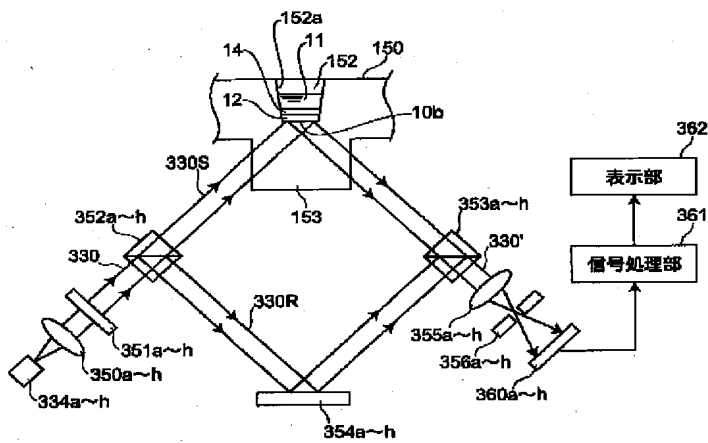
【図6】



【図11】



【図12】



フロントページの続き

Fターム(参考) 2G059 AA01 BB04 DD12 DD13 EE02  
 EE09 GG01 JJ13 KK04 NN10  
 PP02 PP04